



Universidad de Valladolid



**ESCUELA DE INGENIERÍAS
INDUSTRIALES**

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

ESCUELA DE INGENIERIAS INDUSTRIALES

Grado en Ingeniería Química

**Fotobiorreactores, técnicas y parámetros
implicados en la producción de
biocombustibles de origen microalgal**

Autor:

Arribas Jimeno, Andrea

Tutor(es):

**Muñoz Torre, Raúl
Departamento de Ingeniería
Química y Tecnología del Medio
Ambiente**

Valladolid, septiembre, 2020

ÍNDICE

RESUMEN	5
ABSTRACT	5
1. INTRODUCCIÓN	6
2. REACTORES PARA EL CULTIVO DE MICROALGAS	8
2.1. Biorreactores abiertos	9
2.2. Biorreactores cerrados o fotobiorreactores (PBR).....	11
2.2.1 Fotobiorreactores tubulares:	12
2.2.2. Fotobiorreactores de placa plana (Flat-plate PBRs; FP PBRs)	17
2.2.3. Perspectivas futuras	19
3. PRINCIPALES PARÁMETROS INVOLUCRADOS EN EL CULTIVO DE MICROALGAS	21
3.1. Intensidad lumínica	21
3.2. pH	21
3.3. Contenido de CO ₂	22
3.4. Contenido de nutrientes	22
3.5. Temperatura.....	23
3.6. Mezclado	23
4. TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN	24
4.1. Sedimentación por gravedad	24
4.2. Centrifugación	24
4.3. Filtración.....	25
4.4. Flotación de aire.....	25
4.5. Separación magnética	25
4.6. Floculación	26
4.6.1. Auto-Floculación	26
4.6.2. Bio-Floculación	26
4.6.3. Floculación química.....	26
4.6.4. Floculación basada en partículas	27
4.6.5. Floculación electroquímica	27
4.7. Secado	27
5. TÉCNICAS PARA LA EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS	29
5.1. Uso de solventes	30
5.1.1. Método Soxhlet.....	30
5.1.2. Método Folch	30
5.1.3. Método Bligh and Dyer	31

5.2. Fluidos supercríticos.....	31
5.3. Métodos mecánicos	31
5.3.1. Prensa tipo expeller.....	31
5.3.2. Ultrasonidos	32
5.3.3. Microondas.....	32
5.4. Nuevos métodos	32
6. ANÁLISIS AMBIENTAL Y ECONÓMICO DE LAS TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN Y EXTRACCIÓN	35
6.1. Eficiencias y costes	36
6.2. Emisiones de Gases de Efecto Invernadero (GEI)	41
7. PROCESOS DE TRANSFORMACIÓN DE LÍPIDOS (ÁCIDOS GRASOS) EN BIOCOMBUSTIBLES	42
7.1. Desgomado	43
7.2. Transesterificación	43
7.3. Purificación.....	45
7.4. Hidroprocesamiento	46
8. DISEÑO DE UNA PLANTA DE PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS DE MICROALGAS	47
8.1. Introducción	48
8.2. Alcance	48
8.3. Bases de diseño	48
8.3.1. Capacidad	49
8.3.2. Especificaciones.....	49
8.3.3. Localización	49
8.3.4. Instalaciones.....	49
8.4. Ubicación del lugar.....	50
8.4.1. Condiciones climáticas de Salerno	50
8.5. Alternativas y selección del proceso	54
8.5.1. Especie de microalga.....	54
8.5.2. Biorreactor	55
8.5.3. Técnica de recolección y deshidratación	55
8.5.4. Técnica de ruptura celular y extracción de lípidos.....	56
8.5.5. Técnica de purificación.....	56
8.6. Descripción del proceso	57
8.6.1. Process blocks diagram (PBD): descripción general.....	57
8.6.2. Suposiciones y balance de materia	58
8.6.3. Process flow diagram (PFD): descripción detallada	61

8.7. Lista de equipos.....	64
8.8. Consideraciones de seguridad	64
9. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....	69
REFERENCIAS	70
APÉNDICES.....	80
APÉNDICE 1. NOMENCLATURA Y SISTEMA DE UNIDADES	81
APÉNDICE 2. TABLA DE CORRIENTES.....	82
APÉNDICE 3. MODIFIED BOLD’S BASAL MEDIUM	83
APÉNDICE 4. DIAGRAMAS	84

RESUMEN

La producción de biocombustibles a partir de microalgas está siendo optimizada en los laboratorios, para lograr el máximo rendimiento del proceso y, así poder trasladarlo a gran escala a una planta industrial.

En este documento se analizan los diferentes tipos de biorreactores existentes para llevarlo a cabo, comparando sus características, ventajas y desventajas; así como los parámetros de cultivo más influyentes en el crecimiento microalgal: intensidad lumínica, pH, contenido de nutrientes, temperatura y mezclado. Asimismo, se evalúan diferentes técnicas para la recolección, extracción y transformación de los lípidos en biocombustible, considerando su eficiencia y el coste asociado.

En base a toda la información anterior, se propone finalmente un diseño teórico de una planta industrial para la obtención de lípidos a partir de microalgas, con el propósito de alcanzar una producción de 10 toneladas de lípidos diaria. El objetivo es obtener una visión general del proceso para su implementación futura.

Palabras clave: Biocombustible, extracción, fotobiorreactor, lípidos, microalgas.

ABSTRACT

The production of biofuel from microalgae is a subject that is being optimized in laboratories, in order to achieve the maximum performance from the process and thus, transfer it to an industrial and large-scale plant.

In this review, the different types of bioreactors to implement the process are analysed, based on previous results, comparing their characteristics, advantages and disadvantages; as well as the most influential culture parameters in microalgal growth: light intensity, pH, nutrients content, temperature and mixing. Also, the different techniques available for harvesting, extraction and transformation of lipids into biofuel are evaluate, considering their efficiency and the costs associated.

Based on all the above information, a theoretical design of an industrial plant for the production of lipids from microalgae is finally proposed, with the aim of obtaining 10 tons of lipids per day. The objective is to obtain an overview of the process for its future implementation.

Keywords: Biofuel, extraction, photobioreactor, lipids, microalgae.

1. INTRODUCCIÓN

Los combustibles fósiles representan actualmente más del 88% del consumo de energía primaria (Agarwal et al., 2018). Esto supone un problema, ya que varias investigaciones afirman que esta fuente de energía se agotará en un futuro próximo (Sipra et al., 2018). Además, su combustión es perjudicial para el medio ambiente, debido a la liberación a la atmósfera de gases de efecto invernadero. Por ello, varios científicos están investigando nuevos recursos energéticos que sean rentables y respetuosos con el medio ambiente.

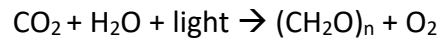
Una de estas alternativas a los combustibles fósiles tradicionales son los biocombustibles (bioetanol, biodiesel...). Los biocombustibles se derivan de fuentes biológicas (por ejemplo, animales, plantas, bacterias, algas, etc.) que sintetizan y acumulan compuestos (lípidos, proteínas, carbohidratos) dentro de su célula. Por lo tanto, constituyen una materia prima renovable. Además, estos biocombustibles son ventajosos en comparación con los combustibles fósiles, al ser biodegradables y no tóxicos (Vogel et al., 2019; S. Wu et al., 2016).

Los cultivos de microalgas han sido ampliamente estudiados para la producción de biodiésel y bioetanol, ya que son fácilmente cultivables a gran escala en estanques abiertos o fotobiorreactores (Hulst, 2013). Por otra parte, las corrientes de aguas residuales pueden utilizarse como solución nutritiva para promover el crecimiento de microalgas, lográndose conjuntamente el tratamiento de las aguas residuales y la producción de biomasa.

El grupo de las algas incluye un gran número de organismos que tienen muchas características comunes. Existen varias cepas de algas, y estas son capaces de crecer en muy diferentes condiciones. Las microalgas se diferencian de otros microorganismos por la presencia de clorofila y su capacidad de fotosíntesis en una sola célula. En comparación con las plantas, las algas no poseen filidos (hojas), rizoides, raíces y otros órganos característicos de las plantas (R. N. Singh & Sharma, 2012b).

Los mecanismos de producción de las algas son la producción fotoautótrofa, heterótrofa y mixta, dependiendo de la fuente de materia orgánica empleada. La producción fotoautótrofa es la fotosíntesis autotrófica, que actualmente es el único método factible para la producción a gran escala de biomasa de algas (Borowitzka, 1997). La producción heterótrofa requiere sustancias orgánicas para estimular el crecimiento (como la glucosa), por lo que el crecimiento de las algas es independiente de la energía lumínica. Esto permite posibilidades de ampliación más sencillas (no es necesaria una elevada relación superficie/volumen). La producción mixta combina la fotosíntesis autótrofa y la asimilación heterótrofa de compuestos orgánicos (Brennan & Owende, 2010).

Las microalgas fototróficas necesitan dióxido de carbono, luz y nutrientes inorgánicos (que contienen nitrógeno, fósforo y silicio) para crecer. La reacción general para la fotosíntesis viene dada por:



Las microalgas pueden fijar el CO_2 de la atmósfera, de la industria pesada (en los gases de descarga) o de los carbonatos solubles (B. Wang et al., 2008). En condiciones de crecimiento natural, las microalgas asimilan el CO_2 del aire (contiene 360 ppmv de CO_2). Además de la concentración de CO_2 en el cultivo y la transferencia de masa de CO_2 , los factores que afectan el proceso de secuestro de CO_2 son la temperatura, el pH, la luz, el mezclado adecuado, la cepa de cultivo y la densidad del cultivo (K. Kumar et al., 2011).

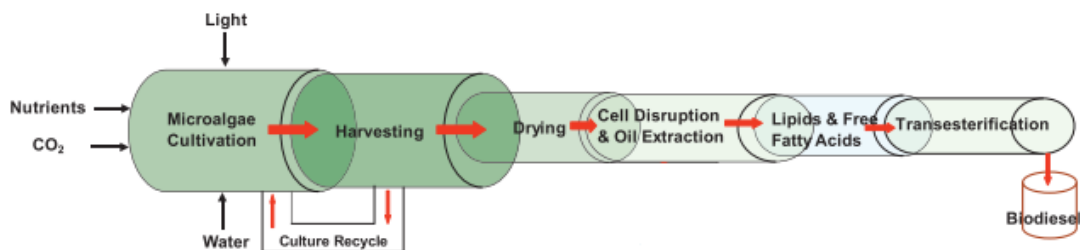


Figura 1. Procesos necesarios para la producción de biodiésel a partir de microalgas, adaptado de Fasaei et al., (2018).

La generación de productos basados en microalgas (por ejemplo, biocombustibles) se compone de 4 pasos principales (Figura 1): cultivo, cosecha y deshidratación de la biomasa, extracción de la biomasa y, por último, fraccionamiento y conversión. El cultivo de microalgas puede realizarse en fotobiorreactores abiertos o cerrados. La cosecha y la deshidratación se realizan con el fin de aumentar el total de materia sólida (hasta el 10-25% del total de materia seca), y puede llevarse a cabo en una o en más etapas, según la técnica empleada. Posteriormente, se extraen lípidos, proteínas e hidratos de carbono de la biomasa microalgal cosechada y, por último, estos compuestos se procesan para obtener los productos finales deseados (transformación de lípidos en biocombustible) (Fasaei et al., 2018).

Por otro lado, los combustibles fósiles son la principal fuente de gases de efecto invernadero. El aumento de las emisiones de estos gases en todo el mundo se debe principalmente al uso a gran escala de estos combustibles fósiles para el transporte, la electricidad y la generación de energía térmica (Brennan & Owende, 2010). Estas emisiones están asociadas al cambio climático, y conllevan importantes consecuencias

para la naturaleza y los sistemas humanos. Por lo tanto, existe cierta incertidumbre sobre la sostenibilidad del uso actual de los combustibles fósiles.

El Protocolo de Kioto de 1997 exigía una reducción del 5,2% de las emisiones de GEI en todo el mundo con respecto a los niveles de 1990 (B. Wang et al., 2008). Para cumplir el objetivo, se está investigando la mitigación química y biológica del CO₂. Como resultado, existe un interés creciente en el desarrollo de biocombustibles, especialmente los derivados de algas y microalgas. En lo que respecta a las emisiones de gases de efecto invernadero, la principal ventaja de utilizar biocombustibles derivados de microalgas es que la producción de biomasa microalgal puede efectuar la biofijación del CO₂ residual (1 kg de biomasa de algas secas utiliza alrededor de 1,83 kg de CO₂) (Chisti, 2007). Por esta razón, resulta muy importante realizar un análisis de las emisiones de GEI asociadas a cada una de las etapas de la producción de biocombustibles algales y microalgales, con el objetivo de elegir la ruta con las menores emisiones y que a su vez asegure un balance energético positivo (Brennan & Owende, 2010).

En este informe se examinan los principales parámetros, procedimientos y técnicas disponibles en cada una de las etapas mencionadas para la producción de biocombustibles a partir de microalgas, y también se expone un análisis ambiental y económico de las mismas.

2. REACTORES PARA EL CULTIVO DE MICROALGAS

En 1950, el cultivo de algas y microalgas estaba orientado principalmente a la obtención de diferentes tipos de biomasa alimenticia, y esto se hacía en estanques abiertos, debido a su gran simplicidad y bajo costo. Posteriormente, surgieron nuevas aplicaciones prácticas del cultivo de algas y microalgas (producción de antioxidantes, moléculas bioactivas, polímeros, polisacáridos, etc.). Esto condujo a la mejora de los procesos, pasando a llevarse a cabo en reactores más sofisticados y adecuados, y que permitían el control de los parámetros físicos y químicos, manteniéndolo aislado del exterior. Así, alrededor de 1980 comenzaron a desarrollarse sistemas cerrados (Carlozzi, 2008). Así, los reactores para el cultivo de microalgas se pueden clasificar en estanques abiertos y reactores cerrados (fotobiorreactores) (Chaumont, 1993). Las principales características, ventajas y desventajas de cada uno, así como las variaciones existentes en cada configuración se exponen a continuación.

2.1. Biorreactores abiertos

En los biorreactores abiertos, el cultivo está en contacto directo con el medio ambiente (Borowitzka, 2013). Las principales ventajas de los biorreactores abiertos son su bajo costo, su sencillez de funcionamiento, su bajo consumo energético y la posibilidad de utilizar la radiación solar. Por lo tanto, son capaces de generar una gran cantidad de energía neta, por lo que se emplean con frecuencia en plantas industriales. En 2008, el costo unitario de la producción de *Dunaliella salina* en un fotobiorreactor abierto era de unos 2,55 euros por kilogramo de biomasa seca, lo que se consideraba demasiado elevado para justificar la producción de biocombustibles (Brennan & Owende, 2010).

Lamentablemente, el uso de biorreactores abiertos presenta las siguientes desventajas: fácil contaminación (debido al contacto directo con el medio ambiente), limitaciones en el control de las condiciones de cultivo (Carlozzi, 2008), pérdidas de agua debido a la evaporación, fluctuaciones de temperatura y una intensidad de luz irregular en las diferentes secciones del biorreactor (Brennan & Owende, 2010). Además, un mecanismo de agitación ineficiente y unas tasas de transferencia de masa deficientes pueden dar lugar a una baja productividad de la biomasa.

En los biorreactores abiertos, la demanda de CO₂ de las microalgas se satisface normalmente con el aire de la superficie, aunque también se pueden instalar aireadores sumergidos para mejorar la absorción de CO₂ (Terry & Raymond, 1985). Asimismo, la transferencia de CO₂ a la fase líquida puede mejorarse acoplado una columna de carbonatación (Suali & Sarbatly, 2012).

Los sistemas abiertos más utilizados son los estanques circulares, los estanques de canalización y los reactores multicapa.

Estanques circulares: Son grandes estanques al aire libre que incorporan un brazo giratorio en el centro para mezclar el cultivo adecuadamente (Figura 3). A medida que el brazo giratorio se desplaza a mayor distancia, se puede obtener una mayor mezcla del cultivo en la periferia. Esta disposición se ha utilizado tradicionalmente para el cultivo de *Chlorella vulgaris* y *Chlamydomonas sp* (Chang et al., 2017).

La productividad de los estanques circulares es de unos 21 g/m²/d, aunque con la adición de carbono orgánico se pueden lograr mayores tasas de crecimiento de las algas (Suali & Sarbatly, 2012).

Estanques de canalización: El cultivo circula continuamente alrededor de una pista de canales, manteniendo las propiedades del cultivo homogéneas y evitando la sedimentación (Figura 3) (R. N. Singh & Sharma, 2012a).

El cultivo de microalgas se introduce después de la rueda de paletas y completa un ciclo mientras se airea mecánicamente con CO₂. Se lleva a cabo su cosecha antes de la rueda de paletas para así comenzar el ciclo de nuevo (Figuras 2 y 4)

(Brennan & Owende, 2010). El burbujeo de dióxido de carbono puede mejorar la aireación, el consumo de dióxido de carbono y la eficacia del mezclado, lo que conlleva un mayor crecimiento de las células microalgales. La rueda de paletas proporciona la circulación, un adecuado mezclado, y también evita la sedimentación. Las principales algas que se suelen cultivar en este tipo de estanques son *Chlorella sp.*, *Spirulina sp.* y *Dunaliella sp.* Se ha registrado una productividad de entre 14 a 50 g/m²/d en estanques de canalización, que puede aumentarse mejorando la transferencia de masa de CO₂ (Suali y Sarbatly, 2012).

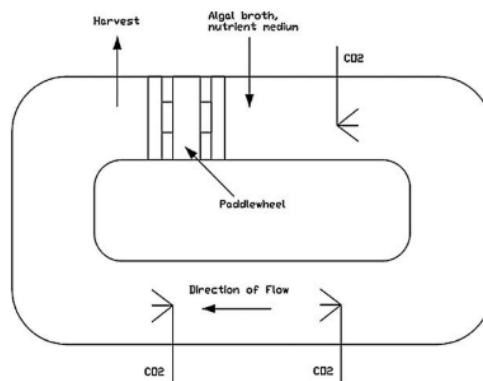


Figura 2. Vista en planta de un estanque de canalización, adaptado de Chisti, 2007.

Tanto los estanques circulares como los estanques de canalización se construyen con poca profundidad porque la luz solar sólo es capaz de penetrar a una profundidad limitada (R. N. Singh & Sharma, 2012b).

Reactores multicapa: Este tipo de tanque permite una mejora de la distribución de la luz, para evitar el efecto de sombreado, que puede ser un factor limitante de la tasa de producción de microalgas a altas densidades celulares. Estos reactores, como se muestra en la figura 5, tienen una estructura interna en capas con compartimentos, que proporciona la dilución y la difusión uniforme de la luz incidente en el reactor. En estos PBR, las células de microalgas son inmovilizadas y fijadas sobre materiales de soporte artificial (papel de filtro, malla de nylon, cuerda de algodón, una pantalla de polietileno, espuma de poliestireno y una capa de hormigón), formando una fina capa de biopelícula de algas. Así, se disponen alternativamente múltiples capas de biopelículas de algas intercaladas con capas intermedias transparentes. Los sustratos y nutrientes son capaces de traspasar y transportarse a través de la biopelícula de algas y la capa intermedia (Chang et al., 2017).



Figura 3. Estanque circular abierto, situado en el campus de An-Nan, Universidad Nacional de Cheng Kung, Tainan, Taiwán (de [Chang et al., 2017](#)).



Figura 4. Estanque de cuatro canales situado en el campus de An-Nan, Universidad Nacional de Cheng Kung, Tainan, Taiwán (de [Chang et al., 2017](#)).

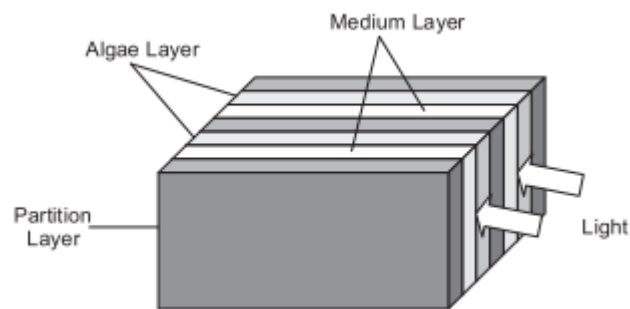


Figura 5. Estructura básica de un tanque multicapa (de [Chang et al., 2017](#)).

2.2. Biorreactores cerrados o fotobiorreactores (PBR)

En los PBRs el cultivo está encerrado dentro del biorreactor, sin posible intercambio directo de gases con la atmósfera. Pueden emplear tanto luz natural como artificial. Sus principales ventajas son la posibilidad de controlar y monitorizar las condiciones (como la temperatura, el pH, la intensidad de la luz, etc.), la mínima evaporación de agua, las escasas pérdidas de CO₂ ([R. N. Singh & Sharma, 2012a](#)) y la ausencia de contaminación externa ([Carlozzi, 2008](#)). Sin embargo, la operación y construcción a gran escala de los mismos lleva asociado altos costos ([Chang et al., 2017](#)).

La eficiencia de los fotobiorreactores está influenciada por varios factores que deben ser analizados con precisión durante el proceso de diseño. Como señalan [B. Wang et al., \(2012\)](#), los principales objetivos que deben perseguirse para que los PBRs sean rentables y respetuosos con el medio ambiente son:

- 1) Maximizar la captación, distribución y utilización de la luz.

- 2) Control preciso de los parámetros de los cultivos (pH, temperatura, etc.), para promover la bio-fijación de la fuente inorgánica de carbono, generalmente el CO₂.
- 3) Minimizar los costos operacionales y de capital.
- 4) Reducir el consumo energético.

Dependiendo de su diseño, los PBR se clasifican fundamentalmente en PBR tubulares y PBR de placa plana. También hay otros tipos de PBR y nuevas configuraciones de PBR existentes que están siendo investigadas y desarrolladas, tales como PBRs con iluminación interna, uso del desplazamiento espectral, PBRs de membrana o plastic bag PBRs.

2.2.1 Fotobiorreactores tubulares:

Los PBR tubulares (TPBR) son los más utilizados a escala industrial. El cultivo circula a través de un tubo o columna transparente, y es recirculado por aireación (vertical) o por bombas mecánicas (horizontal). Es esencial que el flujo sea turbulento, para evitar el asentamiento de las células en el fondo del reactor o en las zonas oscuras ([Chang et al., 2017](#)). Dependiendo de su orientación, los PBR tubulares pueden ser verticales (también denominados columnas) u horizontales.

PBRs tubulares verticales (VT-PBR): Consisten en un cilindro vertical y transparente que permita una buena penetración de la luz, con una alta relación superficie-volumen ([K. Kumar et al., 2011](#)); ([Sánchez Mirón et al., 2002](#)). Esto permite una alta utilización de la luz incidente. Tanto la altura como el diámetro del PBR no deben exceder ciertos límites, para evitar problemas de sombreado y limitaciones de luz. Algunas investigaciones han demostrado que las dimensiones óptimas deberían ser de aproximadamente 0,2 m de diámetro y 4 m de altura ([Mirón et al., 1999](#)).

Los PBR tubulares verticales se caracterizan por su alto coeficiente de transferencia volumétrica de gas. El dióxido de carbono es burbujeado desde el fondo del reactor mediante el uso de difusores. La aireación contribuye a una agitación continua del cultivo ([Mirón et al., 1999](#)). Dependiendo de la disposición del flujo, los PBR tubulares verticales puede ser una columna de burbujas o un PBR de tipo airlift:

- **Columna de burbujas:** En estas columnas, la separación del gas y el líquido tiene lugar en la superficie libre que se encuentra en la parte superior del reactor, como se muestra en la [Figura 6](#) ([B. Wang et al., 2012](#)). La transferencia de dióxido de carbono y la mezcla se hace a través de burbujas de gas procedentes de un rociador ([K. Kumar et al., 2011](#)).
- **PBR tipo airlift:** En este tipo de PBR hay dos áreas interconectadas, una aguas arriba y otra aguas abajo: la zona en la que se burbujea el flujo de gas está aguas arriba, mientras que hay otra zona que no recibe gas,

que está aguas abajo. Su principal ventaja es la creación de un patrón de mezcla circular y homogéneo donde el cultivo líquido pasa continuamente a través de la fase oscura y la fase clara proporcionando efectos de luz intermitente a las células microalgas (R. N. Singh & Sharma, 2012b).

Las principales configuraciones de los PBR de tipo airlift son bucle interno, bucle interno concéntrico y bucle externo (Figura 7). La configuración de bucle externo asegura una mejor mezcla debido a la distancia entre el ascensor y el descensor, lo que permite una separación eficiente del gas. (Chang et al., 2017).

De entre los PBR tubulares verticales, los PBR de tipo airlift permiten una mayor tasa de crecimiento de las microalgas en comparación con los PBR de columna de burbujas, debido a un mejor patrón de mezcla (B. Wang et al., 2012).

Una instalación experimental de PBR tubular vertical fue utilizada por Laing & Jones (1988). Se trataba de un reactor tubular vertical de polietileno (33,7 cm de diámetro x 250 cm de longitud; 40 L de capacidad), iluminado artificialmente desde el interior del PBR. La temperatura del cultivo se controlaba mediante un fluido refrigerante que circulaba a través de una camisa. Se obtuvo una producción media de $0,56 \cdot 10^{11}$ células de *Tetraselmis suecica*/día durante 33 días y de $5,18 \cdot 10^{11}$ células de *Isochrysis galbana*/día durante 21 días. También, Miyamoto et al., (1988), James & Al-Khars, (1990) y Fukami et al., (1997) emplearon PBRs con configuraciones similares, aunque aprovechando la luz del sol, haciéndolo más asequible y sencillo.

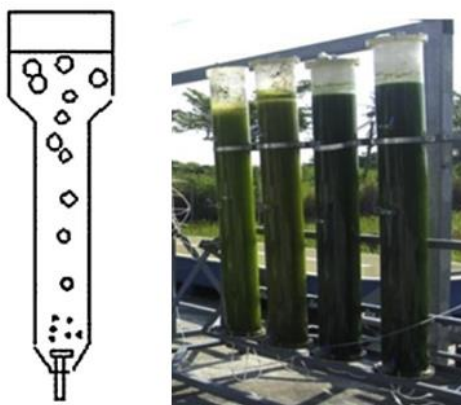


Figura 6. Esquema (de B. Wang et al., 2012) y fotografía de un PBR de columna de burbujas (de Chang et al., 2017).

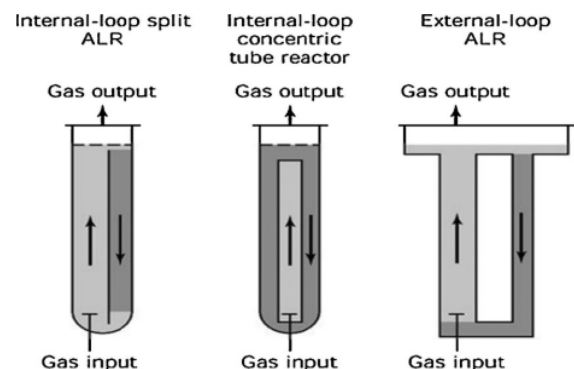


Figura 7. Diferentes tipos de biorreactores tipo airlift (de R. N. Singh & Sharma, 2012b).

PBRs tubulares horizontales: Los PBR tubulares horizontales están compuestos por un conjunto de tubos transparentes paralelos dispuestos horizontalmente y construidos en diferentes patrones (rectos, doblados o en espiral). El diámetro de los tubos debe ser relativamente pequeño (0,1 m o menos) para asegurar una alta productividad de la

biomasa (B. Wang et al., 2012). El CO₂ se introduce en el reactor tubular horizontal a través de un sistema de intercambio de gases (Figura 8). Este tipo de PBR permite una mayor relación superficie-volumen que los verticales. Mientras que las columnas verticales deben tener un diámetro mínimo para mantenerlas estables, los reactores horizontales no tienen este requisito. Además, el ángulo de incidencia de la luz en los biorreactores horizontales es más eficiente para la captación de la intensidad de la luz. Esto también conduce a un aumento de generación de calor en el interior del cultivo. (B. Wang et al., 2012). Por ello, se utilizan diferentes técnicas para evitar el sobrecalentamiento del sistema, entre las que se encuentran la pulverización de agua en la superficie de los tubos, la superposición de los tubos, la colocación de la unidad de recolección de luz dentro de una piscina de agua con temperatura controlada o la regulación de la temperatura de la corriente de alimentación o de recirculación (R. N. Singh & Sharma, 2012b).

A continuación, se describen algunas instalaciones experimentales de PBR tubular horizontal. Torzillo et al., (1986) reportó un reactor tubular horizontal, construido en plexiglás (14 cm de diámetro, 80 m² de superficie y un volumen máximo de trabajo de 8000 L). El cultivo era impulsado por una bomba de diafragma. La máxima productividad alcanzada fue de 0,25 L⁻¹ d⁻¹, cultivando el alga *S. platensis*. Se intentaron tres métodos para resolver el problema de las altas temperaturas: recubrimiento de plástico oscuro de los tubos, superposición de los tubos y pulverización de agua en la superficie de los tubos. El último método resultó ser el más eficaz, aunque exigía un alto nivel de consumo de agua.

Richmond et al., (1993) y Molina Grima Sfinchez P et al., (1994) también utilizaron configuraciones de PBR tubular horizontal, dando como resultado una alta productividad (1,5 g L⁻¹ d⁻¹ con *S. platensis* y 0,32 g L⁻¹ d⁻¹ con *Isochrysis galbana*). Estos sistemas tenían una unidad externa para la recolección de luz, conectada a una torre de intercambio de gases en la parte superior, por una bomba de aire.

Una versión de este tipo de PBR es el biorreactor tubular inclinado o casi horizontal (NH, near-horizontal) (Figura 9). Consiste en varios tubos delgados conectados en la parte inferior por un colector que proporciona gas comprimido, y en la parte superior por un desgasificador. Los tubos están dispuestos con una cierta inclinación (alrededor del 10%) (B. Wang et al., 2012). La inclinación de los tubos conduce a un aumento del coeficiente de transferencia de gas y del tiempo de retención, así como a una disminución del tiempo de mezclado. Tredici & Zltelli, (1998) diseñaron un reactor tubular casi horizontal que consistía en conjuntos de tubos paralelos de plástico flexible (6,4 m de largo, 43 mm de diámetro y 0,15 mm de grosor), conectados por colectores de PVC. Los tubos tenían una inclinación de 5-7°. El control de la temperatura se realizaba mediante la pulverización de agua en el reactor. El volumen máximo ensayado fue de 4000 L, obtenido con un conjunto de 8 tubos de 44 m de

longitud, con una productividad de $0,7 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ en el caso de *Nannochloropsis sp.* Una de las principales desventajas observadas fue la baja tasa de transferencia de gases, debido a la gran longitud y al pequeño diámetro de la configuración.

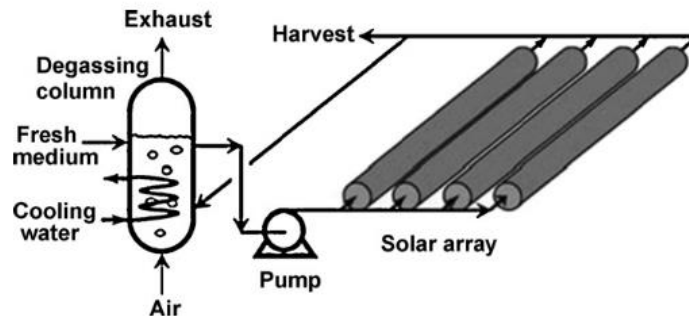


Figura 8. Representación esquemática de un PBR tubular horizontal (de R. N. Singh & Sharma, 2012b).

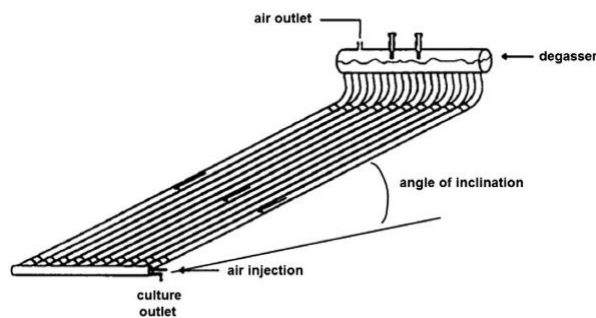


Figura 9. Representación esquemática de un PBR tubular inclinado o casi horizontal (de B. Wang et al., 2012).

PBR helicoidal: El PBR helicoidal es una alternativa al PBR tubular recto, que puede considerarse como un híbrido entre el PBR tubular horizontal y el vertical. Consiste en una bobina formada por un tubo de pequeño diámetro, transparente y flexible, conectado a una unidad desgasificadora. Una bomba centrífuga impulsa el flujo a lo largo del tubo hasta que llega a la unidad de desgasificación (Figura 10). Las principales desventajas de esta disposición son la alta energía requerida para hacer funcionar la bomba centrífuga, la posibilidad de dañar las células de algas con la presión causada por la bomba (Borowitzka, 1999) y el ensuciamiento en el interior del biorreactor (R. N. Singh & Sharma, 2012b).

Robinson et al., (1988) Propusieron el bio-coil (“bio-bobina”), actualmente comercializada por Biotechna (Melbourne, Australia). Este PBR está compuesto por una serie de tubos de polietileno (3,0 cm de diámetro interior) enrollados en un marco

circular abierto, acoplados a una torre de intercambio de gases y a un sistema de intercambio de calor. El cultivo fue conducido a lo largo del tubo hasta el intercambiador de gases por una bomba centrífuga.

Morita et al., (2000) propusieron un reactor helicoidal compuesto por una unidad de recolección de luz (tubos de PVC de 0,16 m de diámetro interno) enrollados en una estructura cónica con una unidad desgasificadora en la parte superior y un intercambiador de calor.

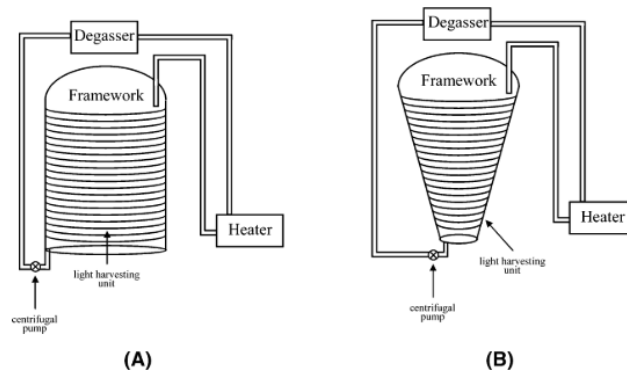


Figura 10. Representación esquemática de diferentes tipos de biorreactores tubulares helicoidales. Biocoil (A) y de marco cónico (B) (de Carvalho et al., 2006).

PBRs en forma α : Consisten en varios tubos transparentes de pequeño diámetro, que forman un circuito con secciones ascendentes y descendentes, colocados con un ángulo de 45° con respecto a la luz solar (Figura 11). El CO₂ se inyecta en varios puntos a lo largo del circuito. La principal ventaja de esta configuración es que el fluido es bombeado en una sola dirección, por lo tanto, se puede utilizar un alto flujo de células sin necesidad de grandes suministros de aire (Carvalho et al., 2006).

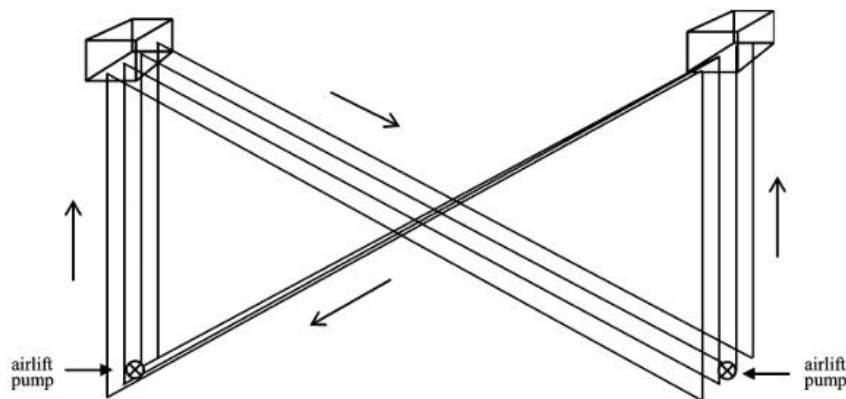


Figura 11. Representación esquemática de un reactor en forma α (de Carvalho et al., 2006).

Y. K. Lee et al., (1995) describieron un PBR en forma α construido con tubos de PVC (conjuntos de 2-5 cm x 25 m de recorrido ascendente-descendente, transparentes; capacidad de 300 L), con varios puntos de inyección de CO₂ a lo largo del recorrido, y con un ángulo de 45° hacia la luz.

Tanques de agitación: Se trata de un tipo de biorreactor en el que la agitación del cultivo se lleva a cabo de forma mecánica, utilizando impulsores de diferentes formas y tamaños (Figura 12). El CO₂ se introduce en el fondo del reactor por medio de burbujeo. Los vórtices formados pueden reducirse mediante el uso de deflectores. La principal limitación de este tipo de PBR es el uso de la luz, ya que la relación superficie-volumen no suele ser muy alta. (R. N. Singh & Sharma, 2012b).

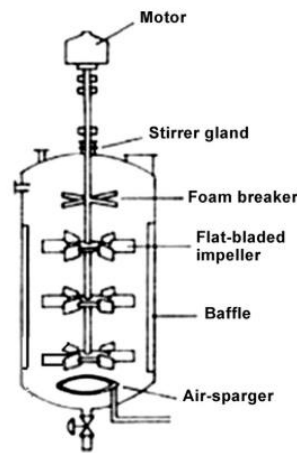


Figura 12. PBR con agitación mecánica, (de R. N. Singh & Sharma, 2012b).

2.2.2. Fotobiorreactores de placa plana (Flat-plate PBRs; FP PBRs)

Estos fotobiorreactores consisten en varias placas planas delgadas fabricadas con materiales transparentes (vidrio, plexiglás, policarbonato), que están conectadas en serie o en paralelo (Carvalho et al., 2006 ; Qiang & Richmond, 1996). Los espesores finos facilitan la difusión y distribución de la luz en esta distribución (Zou & Richmond, 1999); (Hu et al., 1996). aunque los biorreactores muy delgados son más caros de construir, más difíciles de limpiar y tienen más fluctuaciones de temperatura asociadas. (B. Wang et al., 2012).

FP PBRs pueden orientarse en la dirección de la luz para obtener la máxima exposición a las fuentes de iluminación. Esta disposición aumenta considerablemente la relación superficie/volumen, maximizando la intensidad de la luz y haciéndola adecuada para la producción de microalgas en sistemas de cultivo, tanto en interiores como en exteriores (Ling Xu et al., 2009). Su eficiencia fotosintética es tan alta que se genera una gran cantidad de oxígeno y, en consecuencia, se requieren unidades de desgasificación (R. N. Singh & Sharma, 2012a).

Se pueden clasificar en 2 categorías dependiendo de cómo se efectúe la agitación: PBRs con bomba y airlift PBRs (Figura 13). En el caso de las bombas, la turbulencia se genera por medio del bombeo, mientras que los FP-PBRs de tipo airlift utilizan aire comprimido para generar la potencia de mezcla. Las principales desventajas de este tipo de PBR son la dificultad de controlar el flujo, los problemas estructurales y de estabilidad de los paneles (Pirt et al., 2008) y el ensuciamiento, debido a la adhesión de las células a las paredes, reduciéndose considerablemente el área de exposición a la luz (Chang et al., 2017).

La acumulación de oxígeno disuelto es baja en este tipo de PBR (Ling Xu et al., 2009). Para enfriar los paneles planos generalmente se emplea agua pulverizada o intercambiadores de calor internos. No obstante, la producción comercial de microalgas empleando esta configuración de PBR requiere una mayor investigación (Acién Fernández et al., 2013).

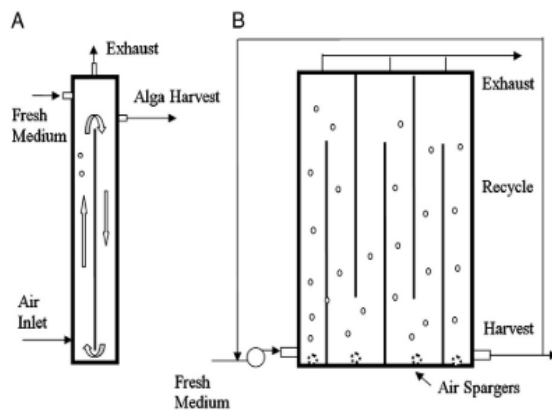


Figura 13. Representación esquemática de la vista lateral de un FP-PBR tipo airlift (A) y de la vista frontal de un FP-PBR impulsado por una bomba (B) (de B. Wang et al., 2012).



Figura 14. Diseño de biorreactor de paneles alveolares construido para investigar el crecimiento de *Spirulina platensis* en el exterior. a) Vista frontal; b) vista lateral (de Carlozzi, 2008).

Richmond & Cheng-Wu, (2001) presentaron un FP-PBR, compuesto de varias unidades de 200 L encapsuladas juntas, cada una de ellas compuesta por placas de vidrio (200 cm x 1000 cm x 10 cm). El burbujeo se realizaba desde el fondo, a través de un tubo de plástico perforado, y la temperatura se controlaba mediante un sistema cerrado de rociado de agua. Se ensayaron varias vías de luz para un cultivo de *Nannochloropsis sp.*, obteniendo la máxima productividad volumétrica ($0,85 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) con la mínima trayectoria de luz (1,3 cm).

Iqbal et al., (1993) experimentaron con un FP-PBR de pequeña capacidad (2 L) en forma de V, alcanzando una tasa de mezcla muy alta y un pequeño desgaste por cizallamiento.

Los FP-PBR convencionales presentan desventajas relacionadas con el control del flujo de cultivo y la construcción de paneles que sean estables y económicamente eficientes (Pirt et al., 1983). Por este motivo, M. R. Tredici & Materassi, (1992) y M. R. Tredici et al., (1991) desarrollaron PBRs con una nueva y mejorada disposición: paneles alveolares verticales PBR (VAP PBRs), caracterizados por unos bajos costes de fabricación, una alta relación superficie-volumen, flexibilidad, buen mezclado y tasa de intercambio de gases (Figura 14). Este VAP PBR estaba compuesto por láminas de plexiglás alveolar rígido de 1,6 cm de espesor. El grosor del cultivo era de aproximadamente 12,5 mm. Utilizando un cultivo de *Anabaena azollae*, se logró una productividad neta de biomasa de hasta $16 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ con una concentración de biomasa de $28 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$.

2.2.3. Perspectivas futuras

A continuación se describen brevemente algunas de las técnicas que están siendo investigadas y desarrolladas con el objetivo de aumentar la eficiencia de los PBR.

Fotobiorreactores iluminados internamente: El uso eficiente de la luz por parte de las algas es un factor clave en el diseño de los PBRs. Cuando la fuente de luz es externa al PBR, las zonas más profundas reciben menos luz que las superficiales. Además, en las áreas internas se produce un fenómeno de auto-sombra.

La instalación de iluminación interna en el biorreactor, como LEDs, fibras ópticas o lámparas fluorescentes, conlleva una distribución homogénea de la intensidad de la luz en el cultivo, y por lo tanto, una mayor eficiencia fotosintética (Carvalho et al., 2006). La principal ventaja de instalar fibras ópticas internas es que el área de iluminación aumenta considerablemente y está determinada por las fibras ópticas y no por la superficie del PBR. Sin embargo, las fibras ópticas son caras y su limpieza es complicada. El uso de LEDs implica menos costos de construcción (Kunjapur & Eldridge, 2010).

Esta iluminación interna puede aplicarse a cualquier tipo de PBR iluminado externamente, de los ya mencionados anteriormente (B. Wang et al., 2012).

Suh & Lee, (2003) estudiaron la fijación de CO_2 usando *Chlorella sp* HA-1 en un sistema de reactor semicontinuo y en serie, compuesto por cuatro PBRs iluminados internamente. Se logró un promedio de $4,013 \text{ g}$ de CO_2 día⁻¹. Las principales limitaciones fueron los altos costos de capital, la limpieza y la pérdida de energía luminosa en la transmisión por las fibras ópticas.

Desplazamiento espectral: Aproximadamente el 50% de la luz del sol (luz dentro del rango de 400-700 nm) es radiación fotosintéticamente activa (PAR) (Suh & Lee, 2003). El resto de la luz no PAR, únicamente aumenta la temperatura del cultivo, lo que puede dañar las células. Por lo tanto, se están estudiando métodos para aumentar el

porcentaje de PAR. Uno de ellos es el uso del desplazamiento espectral. [Prokop et al., 1984](#) emplearon una solución de colorante que absorbía la luz no-PAR y al mismo tiempo emitía luz fluorescente (luz PAR). Sin embargo, esta técnica todavía requiere de mucha investigación

[Prokop et al., \(1984\)](#) diseñaron y optimizaron un sistema de tintes capaz de cambiar la energía de la radiación solar en un determinado rango de longitudes de onda, absorbiendo la radiación en el rango ultravioleta-azul (no PAR) y emitiendo la radiación en el rango amarillo-rojo (PAR), potenciando así el crecimiento de las algas. Los tintes se aplicaban indirectamente en un reactor tubular (algas en el interior y solución de tinte en el exterior), para evitar problemas de toxicidad. Utilizando la rodamina 6G, se obtuvo el máximo aumento de crecimiento indirecto, a una concentración de $3 \cdot 10^{-5}$ M, con lámparas de filamento de tungsteno.

PBRs de membrana: Los PBR de membrana facilitan la transferencia de masa entre gases y líquidos ([Lehr & Posten, 2009](#)). También evitan la turbulencia excesiva y permiten la separación continua de los metabolitos extracelulares. Este tipo de PBR ha sido investigado por varios científicos, entre ellos [Fan et al., 2008](#), quienes usaron un PBR helicoidal tubular de membrana, o [Rossignol et al., 2000](#), quienes acoplaron un PBR a un sistema de ultrafiltración en un cultivo de la microalga *Haslea ostrearia*.

[Fan et al., \(2008\)](#) trabajaron con una membrana helicoidal tubular de PBR (800 ml de capacidad), colocando membranas de fibra hueca en el interior del PBR para que funcionara como un esparcidor de gas que producía pequeñas burbujas.

PBRs de tipo plastic-bag: El uso de bolsas de plástico desechables (normalmente de polietileno) como PBR en lugar de un PBR convencional, reduce enormemente los costes de construcción. Sin embargo, la ampliación de esta técnica a nivel industrial es complicada debido a la necesidad de eliminar grandes cantidades de bolsas de plástico. Esta técnica se utilizó en las operaciones de acuicultura para el cultivo de algas como alimento, utilizando grandes bolsas de polietileno de hasta 2000 L ([Borowitzka, 1999](#)); ([Zmora & Richmond, 2007](#)). Además, [Sierra et al., \(2008\)](#) propusieron un diseño vertical de FP-PBR consistente en una bolsa de plástico extraíble colocada entre dos marcos de hierro.

Debido a la gran variedad de tipos de PBR disponibles, la elección de uno no siempre es fácil. Para seleccionar correctamente el tipo de PBR que se va a utilizar de entre todas las posibilidades, se deben considerar varios criterios, entre ellos el tipo y la calidad deseados del producto final (en general, si el producto deseado es el biocombustible, se recomienda utilizar estanques abiertos o de canalización debido a su bajo costo y simplicidad), la tolerancia y la adaptabilidad de las cepas microalgas a los factores ambientales, la relación entre la escala, el rendimiento y los costos, y la disponibilidad de recursos (tierra, agua, CO₂ y luz), entre otros ([Chang et al., 2017](#)).

3. PRINCIPALES PARÁMETROS INVOLUCRADOS EN EL CULTIVO DE MICROALGAS

3.1. Intensidad lumínica

Las microalgas fotoautótrofas necesitan luz como fuente de energía para permitir la bio-fijación del CO₂ en materia orgánica (carbohidratos, proteínas, lípidos). Por lo tanto, la intensidad de la luz, así como la duración de la iluminación, son parámetros vitales que afectan directamente la eficiencia de la fotosíntesis (Krzemińska et al., 2014). Estas características deben ser optimizadas a fin de maximizar el crecimiento del cultivo de microalgas.

Generalmente, las altas intensidades de luz implican una mayor actividad fotosintética de las microalgas. Sin embargo, hay un límite de intensidad de luz después del cual se produce el fenómeno de fotoinhibición. Por ello, para encontrar estas condiciones óptimas de luz, debe tenerse en cuenta este fenómeno (Ognjanovic et al., 2009). La intensidad de saturación de la luz varía desde 30 a 45 W/m² (140–210 μE·m⁻²·s⁻¹). Según Hanagata et al. (1992) este valor de intensidad de luz en *Chlorella sp.* y *Scenedesmus sp.* es de alrededor de 200 200 μE·m⁻²·s⁻¹.

La eficiencia de utilización de la luz (E_s) y la eficiencia fotosintética global (E_r) dependen de la relación entre la intensidad de la luz incidente (I_o) y la intensidad de la luz de saturación (I_s), siguiendo la siguiente relación:

$$E_s = I_s/I_o \cdot [\ln(I_o/I_s) + 1]$$

Por esta razón, para lograr una mejor utilización de la luz, los fotobiorreactores deben diseñarse minimizando la relación (I_o/I_s), lo que puede conseguirse disminuyendo I_o y/o aumentando I_s , resultando aconsejable la selección de especies de algas con alto I_s (K. Kumar et al., 2011).

La intensidad de la luz y el tiempo de exposición óptimos son diferentes para cada especie, y se determinan experimentalmente (Khoo et al., 2020).

La mayoría de los estudios muestran que el período óptimo de exposición a la luz es de alrededor de 16h de luz seguido de 8h de oscuridad (Chew et al., 2017). También se ha investigado el efecto de las diferentes longitudes de onda de la luz incidente. Severes et al., (2017) demostraron que, cuando las algas de la especie *Chlorella sp* se exponen a la luz roja, el crecimiento y la acumulación de lípidos es máxima, al contrario de lo que sucede si las células se exponen a la luz verde.

3.2. pH

Es fundamental mantener un valor de pH óptimo que maximice el crecimiento de las microalgas. Cada especie de microalgas tiene su propio pH óptimo. Según Ren, 2014,

los medios básicos facilitan la captura de CO₂ de la atmósfera. Por otro lado, se ha observado que un pH superior a 8,5-9,5 disminuye el contenido de clorofila en las algas (Maizatul et al., 2017). Generalmente, la mayoría de las algas crecen de forma adecuada con un pH entre 6-8,75 (Khoo et al., 2020). Se ha comprobado que *Chlorella vulgaris* presenta una amplia gama de posibles pH óptimos de trabajo (4-10) (Tham et al., 2019).

3.3. Contenido de CO₂

La principal fuente de carbono inorgánico que consumen las microalgas es el CO₂, por lo que la concentración de este compuesto en el medio de cultivo resulta influyente en el crecimiento de las algas. Grandes cantidades de CO₂ disueltas conducen a un crecimiento significativo de las microalgas pero por otro lado provocan una acidificación del medio. Sin embargo, hay una cantidad máxima de contenido de CO₂ para cada especie, por encima de la cual los efectos son negativos en el crecimiento celular y la acumulación de lípidos (S. P. Singh & Singh, 2014; Greque De Moraes & Vieira Costa, n.d.; Hoshida et al., 2005). En un medio acuoso disueltas, el CO₂ coexiste en equilibrio con el H₂CO₃, HCO₃⁻ y CO₃²⁻, cuya concentración depende del pH y la temperatura (K. Kumar et al., 2011). Cuando el contenido de CO₂ es mayor de lo necesario para la fotosíntesis, el resto se transforma en ácido carbónico (H₂CO₃), acidificando el medio. En consecuencia, la actividad fotosintética y el crecimiento de las microalgas se alteran negativamente (Ying et al., 2014). Además, el impacto ambiental inducido por la mayor concentración de CO₂ causa una reducción biológica en la capacidad de las células de las algas para el secuestro de CO₂ (K. Kumar et al., 2011). Chiu et al., (2008) realizaron algunos experimentos estudiando el secuestro de CO₂. A una tasa de flujo de 0,25 vvm se concluyó que el 2% (v/v) de CO₂ resulta óptimo para el crecimiento de la especie *Chlorella*, mientras que al 10% (v/v), la tasa de crecimiento específico se vuelve insignificante. Sin embargo, los experimentos llevados a cabo por Maeda et al., (1995) sobre el secuestro de CO₂ de los gases de combustión confirma que *Chlorella sp.* T-1 puede tolerar hasta un 100% de concentración de CO₂, pero la máxima tasa de crecimiento se obtuvo cuando se utilizó el 10% de CO₂. Furthermore, según estudios realizados por Anjos et al., 2013, la concentración óptima de CO₂ para *Chlorella vulgaris* es 6.5%.

3.4. Contenido de nutrientes

Las microalgas necesitan nutrientes como el nitrógeno, el azufre, el carbono, el hierro y el fósforo para crecer y sintetizar moléculas complejas (lípidos, proteínas, carbohidratos). Por lo tanto, el cultivo debe ser abastecido con estos nutrientes simples. La ausencia o deficiencia de cualquier nutriente tiene consecuencias en las

células, como la reducción o el aumento de la acumulación de lípidos. (Arguelles et al., 2018). Sin embargo, la deficiencia de nutrientes también afecta a otras rutas bioquímicas que pueden disminuir la producción de lípidos (Srinuanpan et al., 2018), así que este fenómeno está siendo estudiado con el fin de encontrar el equilibrio óptimo.

3.5. Temperatura

La temperatura es un parámetro importante en el cultivo de microalgas. Es necesario controlar y optimizar el rango de temperatura para garantizar una mayor producción de lípidos. Esto resulta más fácil si se emplean sistemas cerrados (Alishah Aratboni et al., 2019).

Algunas microalgas reducen drásticamente o incluso detienen completamente su crecimiento cuando se alcanzan ciertas temperaturas (Huang et al., 2019). Esto ocurre como resultado de la desnaturalización e inactivación de algunas proteínas. Por otra parte, las temperaturas excesivamente bajas afectan negativamente a la cinética de las reacciones metabólicas, frenando así el crecimiento de las microalgas (Khoo et al., 2020).

La temperatura también afecta a otros parámetros que intervienen en el crecimiento de las microalgas, como el grado de solubilidad del CO₂ en el medio y el valor del pH. Según varios estudios llevados a cabo por Suthar & Verma., (2018), temperaturas dentro del rango de 20-30 °C proporcionan el crecimiento óptimo para la mayoría de las especies de microalgas. Sin embargo, las algas termófilas pueden soportar temperaturas de hasta 80 °C (Khoo et al., 2020).

3.6. Mezclado

El mezclado del cultivo de microalgas es esencial para asegurar una distribución homogénea de los nutrientes, la temperatura, el pH y el CO₂. Sin embargo, la velocidad de mezclado no debe ser demasiado alta, para evitar la lisis celular (Khoo et al., 2020).

Por último, cabe destacar que sería interesante considerar el impacto generado en la cultura por la modificación combinada de estos parámetros (Ashok et al., 2019), así como la influencia de posibles depredadores de las especies de microalgas cultivadas (Muñoz & Guieysse, 2006).

4. TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN

La recolección hace referencia a la recuperación de las microalgas de su medio de cultivo, es decir, consiste en llevar a cabo una concentración del contenido de microalgas. Este proceso se considera efectivo si garantiza una alta recuperación de la biomasa de algas, así como un mínimo de costes, energía y mantenimiento. Además, la posibilidad de reutilizar el medio de cultivo es también un factor importante a tener en cuenta. Existen diferentes técnicas para llevar a cabo esta recuperación. Para seleccionar el método apropiado, es necesario considerar las características de las microalgas utilizadas (tamaño y densidad de las células), así como el producto final deseado. Las técnicas de recolección pueden ser mecánicas, químicas, biológicas y eléctricas. Las más comunes son la centrifugación, la floculación, la filtración y la flotación. Las principales ventajas y desventajas de cada una de ellas se exponen en la Tabla 2. Estas técnicas generalmente se combinan y complementan entre sí para asegurar un alto rendimiento global ([Sakarika & Kornaros, 2019](#); [Lixian Xu et al., 2011](#)). Por lo general, la recolección puede seguir 3 líneas estratégicas de actuación: una sola etapa de recolección y deshidratación, una etapa de recolección seguida de una etapa de deshidratación independiente o una etapa de recolección seguida de 2 etapas de deshidratación ([Fasaei et al., 2018](#)). Todas ellas suelen ir seguidas de etapas de secado, para prolongar la vida útil y hacer posible la elaboración del producto final ([Fasaei et al., 2018](#)).

4.1. Sedimentación por gravedad

Las células de las microalgas que están suspendidas en el medio de cultivo son capaces de sedimentar gracias a las fuerzas gravitacionales y a la diferencia entre las densidades de las microalgas y del medio. Si esta diferencia de densidades es pequeña, el proceso de recolección no es efectivo. Esta técnica no suele utilizarse a nivel industrial, ya que la tasa de sedimentación de las microalgas de 4-5 μm a gran escala es limitada y se requiere una superficie considerable del reactor ([A. Singh et al., 2011](#)).

4.2. Centrifugación

El mecanismo de centrifugación también está basado en la diferencia entre la densidad de las células de las microalgas y la densidad del medio. Sin embargo, en este caso la fuerza gravitacional no es importante. Esta técnica implica en cambio una fuerza centrífuga aplicada. Así, la velocidad de sedimentación se mejora. Hay numerosos tipos de centrífugas disponibles a escala industrial, tales como las centrífugas multicámara, las de recipiente sólido y las de disco apilado. Las centrífugas de discos apilados son las más adecuadas para la recolección de microalgas entre 5-10 μm y también requieren una intervención manual mínima ([Borowitzka, 2013](#)). La centrifugación es la técnica

más utilizada para la recolección de biomasa, porque es aplicable a todos los tipos de cepas de microalgas ([Roy & Mohanty, 2019](#)).

4.3. Filtración

La filtración consiste en la separación de las células de microalgas del medio líquido debido a una diferencia de presión a través de un filtro. El líquido pasa a través del filtro, mientras que la biomasa es retenida. Esta filtración puede ser una filtración a presión (la presión en el lado de la alimentación es mayor que la atmosférica) o una filtración a vacío (se crea un vacío en el lado del filtrado).

Además, la filtración también puede llevarse a cabo utilizando membranas semipermeables. Hay muchos tipos diferentes de membranas y varios tipos de filtración (ósmosis inversa, ultrafiltración, microfiltración) en función del producto deseado. Los sistemas de membranas pueden concentrar la biomasa de algas hasta un 5% de materia seca ([Fasaei et al., 2018](#)).

Los recientes avances en la construcción de biorreactores de membrana han hecho que esta tecnología sea más asequible ([Muñoz & Guieysse, 2006](#)). Además, varios autores han investigado la inmovilización de microalgas en material polimérico como la carragenina, el quitosano o el alginato ([Chevalier & de la Noüe, 1985](#); [Lau et al., 1995](#)). Sin embargo, estas matrices son frágiles y costosas, por lo que su aplicación es limitada ([Hoffmann, 1998](#)). Otra alternativa es el uso de fotobiorreactores cerrados en los que la biomasa se adhiere a las paredes del biorreactor ([Muñoz & Guieysse, 2006](#)).

4.4. Flotación de aire

La flotación de aire consiste en la separación de la biomasa del medio de cultivo líquido gracias a la presencia de burbujas de aire inducidas en la fase líquida. Aunque muchas microalgas flotan de forma natural debido a su baja densidad, la presencia de burbujas de aire ayuda a promover la flotación. En general, la flotación favorece la recuperación de la biomasa de microalgas por encima de la sedimentación debido a la baja densidad de los flóculos de microalgas en comparación con las células de microalgas ([Gerardo et al., 2015](#)).

4.5. Separación magnética

En este método, las microalgas suspendidas absorben partículas magnéticas de tamaño micro o nano. Estas células de microalgas se recuperan posteriormente, en

base a su movimiento paramagnético, debido a la aplicación externa de una fuerza magnética (S. K. Wang et al., 2015).

4.6. Floculación

La floculación se refiere a la agregación de partículas o células inestables y pequeñas mediante la neutralización de la carga superficial, la aplicación de parches electrostáticos y/o el establecimiento de puentes tras la adición de diferentes floculantes. La formación de flóculos permite la separación (o la recuperación) mediante un simple asentamiento inducido por la gravedad o cualquier otro método de separación convencional (Vandamme et al., 2013). El proceso de floculación ha sido ampliamente investigado como una estrategia prometedora para la recolección de varias especies de algas (Matter et al., 2019). Existen diferentes métodos para inducir la floculación de las microalgas, los cuales serán descritos a continuación.

4.6.1. Auto-Floculación

Esta técnica consiste en la agregación espontánea de las células de algas suspendidas en condiciones de tensión. Esta agregación induce su sedimentación gravitacional. Este fenómeno se ha observado en diferentes especies de algas, especialmente cuando el cultivo está sujeto a cambios en el pH (Matter et al., 2019). Este fenómeno se debe a que tanto las condiciones alcalinas como las ácidas reducen las intensidades de la carga superficial negativa de las células de las algas, lo que conduce a su autoagregación (J. Liu et al., 2013a).

Gutzeit et al., 2005 describió un proceso de autoagregación de cultivo de algas bacterianas para aguas residuales domésticas.

4.6.2. Bio-Floculación

La utilización de otros microorganismos para la recolección de algas (bio-flocculation) se considera uno de los enfoques más prometedores y potencialmente sostenibles. Los biofloculantes incluyen hongos, levaduras, bacterias y/o especies de algas auto-floculantes, así como sus sobrenadantes de cultivo. El proceso biológico floculación debe optimizarse aún más para maximizar la eficiencia de la cosecha y reducir los costes de operación asociados (Matter et al., 2019).

4.6.3. Floculación química

La floculación química consiste en la adición de ciertas sustancias que inducen la floculación de la biomasa. La floculación química se debe a la neutralización de las cargas y al puente que se forma entre las células de las algas en suspensión y los agentes floculantes aplicados. Ambos floculantes inorgánicos (sulfato de aluminio, cloruro férrico) (Cassey TL & Shazwan AS, 2014) y polímeros orgánicos (quitosano,

almidones catiónicos, taninos modificados y poliacrilamidas) pueden utilizarse con este fin (Liu et al., 2013a; Toh et al., 2018).

4.6.4. Floculación basada en partículas

La floculación basada en partículas resuelve algunas de las principales desventajas de la floculación química tradicional, como es la biotoxicidad. Este método se basa en la neutralización de la carga y el puente electrostático con nano/macropartículas funcionales. Dentro de estas están las partículas multifuncionales. Estas partículas resultan interesantes y útiles para los procesos de producción de biodiésel a partir de microalgas, ya que permiten la realización de funciones adicionales que son necesarias para los procesos posteriores, como la disrupción celular, la extracción de lípidos y la conversión en éster metílico o éster etílico (biodiésel). (El-Baz et al., 2016).

4.6.5. Floculación electroquímica

Esta técnica consiste en hacer pasar una corriente eléctrica a través del cultivo, utilizando electrodos. Las células de las algas se comportan como coloides cargadas negativamente. Los electrodos utilizados en este método de floculación podrían ser de dos tipos: "electrodos de sacrificio" o "electrodos de no sacrificio". Los electrodos de sacrificio (normalmente de hierro y aluminio, o posiblemente de magnesio, cobre, zinc) descargan iones metálicos en el medio. Sin embargo, los "electrodos de no sacrificio" (como el carbono) no son reactivos. En ambos casos, la corriente eléctrica podría causar la electrólisis del agua en el medio, liberando así hidrógeno y oxígeno en forma de burbujas (Misra et al., 2014; Uduman et al., 2010). Si estas burbujas se adhieren a las algas suspendidas, las células flotan hacia la superficie del líquido. Esto se conoce como "electro-flotador" (Shin et al., 2017; J. Kim et al., 2012).

4.7. Secado

La recolección proporciona concentraciones de biomasa del 15 o 25%, por lo que la suspensión puede llegar a deteriorarse en un par de horas. La operación de secado logra concentrar la biomasa hasta el 90 o 95% (Lixian Xu et al., 2011). Algunas de técnicas de secado de microalgas disponibles son el secado solar, el secado por convección (microondas/horno), el secado por pulverización, el secado por congelación y el secado en tambor (Tabla 3) (Khoo et al., 2020).

Tabla 1.

Comparación de varias técnicas de recolección (adaptación de Roy & Mohanty, 2019).

Técnicas de recolección	Eficiencia de recuperación	Tiempo de proceso	Consumo energético	Coste de operación
Sedimentación	Baja	Largo	Bajo	Bajo
Centrifugación	Alta	Corto	Alto	Algo
Flotación	Media	Corto	Bajo	Medio
Filtración	Alta	Corto	Bajo	Alto
Floculación	Alta	Corto	Bajo	Medio
Autofloculación	Alta	Medio	Bajo	Bajo
Biofloculación	Alta	Corto	Bajo	Medio
Electrofloculación	Alta	Corto	Alto	Alto
Recolección con partículas magnéticas	Alta	Corto	Bajo	Alto

Tabla 2.

Ventajas y desventajas de las distintas técnicas de recolección.

Método	Ventajas	Desventajas	Ref.
Sedimentación por gravedad	10-90% de recuperación celular. Bajo coste. Puede usarse como primera etapa, reduciendo el aporte de energía y el costo de las etapas subsiguientes. Aplicación sencilla. Baja demanda energética.	Específico para cada especie de alga. Se adapta mejor a las células densas no móviles. La separación puede ser lenta y poco fiable. Baja concentración final. Separación lenta. Gran superficie de separación. Baja recuperación celular. Aplicación limitada: adecuado para algas de gran tamaño.	Branyikova et al., 2018 (Pahl et al., 2013) Nrel, 2010 Pittman et al., 2011 Fasaei et al., 2018
Centrifugación	La recuperación celular superior al 90%. Eficaz con la mayoría de los tipos de algas. Operación continua. Eficiente a gran escala.	Requerimiento energético intenso. Solo recomendado para productos de alto valor añadido. Altos coste capital y operacional.	Branyikova et al., 2018 Matter et al., 2019 Pugazhendhi et al., 2019 Barros et al., 2015 Pahl et al., 2013 Fasaei et al., 2018
Filtración a presión	Baja demanda energética. Alta recuperación celular.	Operación discontinua. Posible atascamiento o ensuciamiento.	Wileman et al., 2012 Shen & Pei, 2009 Fasaei et al., 2018
Filtración a vacío	Operación continua.	Coste relativamente alto. Posible atascamiento o ensuciamiento.	Molina Grima et al., 2003 Wileman et al., 2012 Shen & Pei, 2009 Gorgich et al., 2020 Shelef et al., 1965 Fasaei et al., 2018
Filtración con membrana	70-90% de recuperación celular. Amplia variedad de tipos de filtros y membranas disponibles. Separación fiable. Apto para células delicadas. Eficiente a pequeña escala.	Fuerte dependencia entre el flujo de filtración y el área de la membrana. Ensuciamiento y atascamiento, especialmente en membranas poliméricas. Gran coste por unidad de superficie y baja densidad de empaquetamiento de la superficie. Alto consumo energético para generar un gradiente de presión a través de la membrana. Dependencia de la especie algal. Eficacia mayor con células grandes.	Branyikova et al., 2018 Fasaei et al., 2018 Marrone et al., 2018 Le-Clech et al., 2006
Flotación con aire (sedimentación inversa)	50-90% de recuperación celular. Más rápido que la sedimentación por gravedad. Possibility to combine with gaseous	Eficiencias muy dependientes de la especie de alga. Alto coste para producir pequeñas burbujas de aire. Necesidad del uso de floculantes.	Branyikova et al., 2018 Matter et al., 2019 Garg et al., 2014

Separación magnética	90% de recuperación celular. Método rápido. Rentable.	Precisa de una modificación magnética de la biomasa. Dificultad para obtener la biomasa pura y libre de partículas magnéticas.	Branyikova et al., 2018
Autofloculación	Método barato. Ecológico. No precisa de floculantes químicos.	Limitado para ciertas especies de algas. Lento. Baja eficiencia.	Matter et al., 2019
Biofloculación	Renovable No precisa de floculantes químicos.	Específico para cada especie. Contaminación de la biomasa. Preocupación ambiental por la liberación de floculante.	Matter et al., 2019
Floculación química	Método rápido. Efectivo. Escalable Recuperación celular superior al 90%. Amplio rango de floculantes disponibles. Baja demanda energética. Bajo coste de equipo.	Contaminación de la biomasa. Preocupación ambiental por la liberación de floculante. La eficiencia depende de las condiciones de cultivo	Matter et al., 2019 Branyikova et al., 2018 Shen & Pei, 2009 Nrel, 2010 Beach et al., 2012 't Lam et al., 2014 Fasaei et al., 2018
Floculación con partículas	Método rápido. Posibilidad de reutilizar el floculante.	Producción costosa. Limitado a escala de laboratorio.	Matter et al., 2019
Floculación electroquímica	Método rápido. Adecuado para casi todos los tipos de algas. No se necesitan floculantes químicos. Recuperación celular superior al 90%. Bajo consumo energético. Posibilidad de combinarse con la flotación en un mismo paso.	Ensuciamiento. Corta vida útil de los electrodos. Contaminación de la biomasa con los electrodos metálicos. Alta demanda de energía eléctrica. Necesaria una posterior sedimentación o flotación de flóculos.	Matter et al., 2019 Branyikova et al., 2018.

Tabla 3.
Ventajas y desventajas de las distintas técnicas de secado.

Método de secado	Ventajas	Desventajas	Ref.
Secado en tambor	Tecnología madura.	Alta demanda energética.	Fasaei et al., 2018
Secado por pulverización	Adecuado para productos de alto valor.	Alta demanda energética.	Molina Grima et al., 2003 Fasaei et al., 2018
Secado solar	Bajo coste.	Lento. Alto riesgo de contaminación. No es adecuado para productos alimenticios.	Brennan & Owende, 2010 Chen et al., 2015 Fasaei et al., 2018

5. TÉCNICAS PARA LA EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS

La composición química de los lípidos que muchas microalgas sintetizan es similar a la de los aceites vegetales (ácidos grasos). Por esta razón, se están investigando diferentes métodos para transformar estos lípidos en biocombustibles ([Dunahay et al., 1996](#); [Chisti, 2007](#)), con el objetivo de desarrollar una fuente de energía renovable y biodegradable que genere la menor cantidad de residuos ([Vicente et al., 2004a](#)) y capaz de reemplazar al petróleo y sus derivados ([Chisti, 2008](#)).

La acumulación de lípidos en las microalgas depende de las características del medio. Los factores importantes son el exceso o la deficiencia de fotosintatos, los nutrientes (M. Takagi et al., 2000), la concentración de CO₂ (Chiu et al., 2009), y la concentración de sales (Mutsumi Takagi et al., 2006), entre otros.

Una vez que se ha maximizado la acumulación de lípidos, resulta necesario extraerlos de las células de microalgas. Los principales métodos que han sido y están siendo estudiados para este propósito son: uso de solventes, fluidos supercríticos, campo de pulso eléctrico, microondas y ultrasonido (Batista et al., 2016; Taher et al., 2014).

5.1. Uso de solventes

La base de la extracción con disolventes es la permeabilidad de estos sobre la biomasa. Cuando el disolvente entra en contacto con las microalgas, los lípidos se extraen en el disolvente. Por lo tanto, un disolvente ideal es aquel que tiene biocompatibilidad y máxima solubilidad con los lípidos a extraer. Los disolventes utilizados son generalmente líquidos a temperatura ambiente (P. Li et al., 2019).

Se han realizado diferentes investigaciones para encontrar las proporciones óptimas de los disolventes utilizados, así como el tiempo de extracción necesario en diferentes especies de microalgas. Trabajando con la especie de algas verdes *Scenedesmus obliquus*, y utilizando una mezcla de cloroformo:metanol como disolvente, los estudios muestran que la proporción más adecuada del disolvente para la extracción de ácidos grasos es de 2:1 (Abomohra et al., 2016) con un tiempo de extracción de 2 h. Por otra parte, en el caso de la extracción de algas planctónicas de *Botryococcus braunii*, la proporción óptima, utilizando cloroformo:metanol como disolvente, es del 75% v/v (Hidalgo et al., 2016).

Algunos métodos convencionales de extracción por disolvente son el método Soxhlet, el método Folch y el método Bligh and Dyer (Tabla 5) (Khoo et al., 2020).

5.1.1. Método Soxhlet

Este método está basado en una extracción sólido-líquido. El disolvente se calienta en un frasco hasta que hierve. Se condensa y luego se recoge en un cartucho que contiene la biomasa, donde se produce la extracción de lípidos. Cuando este cartucho está lleno, el disolvente con los lípidos disueltos es desviado de nuevo al matraz inicial. Esto se repite hasta que los lípidos han sido totalmente o casi completamente extraídos. Los lípidos se acumulan en el fondo del matraz ya que tienen un punto de ebullición más alto que los disolventes de extracción (Khoo et al., 2020).

5.1.2. Método Folch

En este método, se utiliza una mezcla de cloroformo:metanol (2:1 v/v) como disolvente. La biomasa se mezcla con una solución salina. Posteriormente, la mezcla

resultante se separa por gravedad en dos fases. Así, los lípidos, que permanecen en la fase superior, pueden ser separados (Khoo et al., 2020); (Gorgich et al., 2020).

5.1.3. Método Bligh and Dyer

El método de Bligh y Dyer se basa en un sistema bifásico de equilibrio líquido-líquido, que se utiliza comúnmente para la separación y cuantificación de lípidos, y es similar al método de Folch. Sin embargo, las proporciones del disolvente son diferentes. Este método utiliza una mezcla de cloroformo:metanol:agua (2:1:0,8), utilizando el agua como co-solvente. El proceso comienza con la extracción de los lípidos usando una mezcla de cloroformo y metanol. Después, los lípidos se extraen de la fase de cloroformo usando diferentes métodos (Gorgich et al., 2020).

5.2. Fluidos supercríticos

Este método implica el uso de un fluido en estado supercrítico (las propiedades físicas y térmicas se encuentran entre las del líquido y el gas puros) como disolvente de extracción. Los fluidos más comúnmente usados como solventes supercríticos son el CO₂ y el agua (P. Li et al., 2019), y las ventajas y desventajas del uso de cada sustancia se exponen en la [Tabla 6](#).

Se han realizado varias investigaciones sobre el uso de fluidos supercríticos para la extracción de lípidos y pigmentos, en especies como *Nannochloropsis sp*, obteniendo una extracción de 45 g de lípidos/100 g de biomasa seca y utilizando CO₂ supercrítico y etanol como cosolvente (Nobre et al., 2013). En el caso de *Chorella protothecoides*, *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Hegewald in Hanagata y *Nannochloropsis salina* DJ Hibberd, utilizando este mismo método, se han extraído los ácidos grasos esenciales, obteniendo en los tres casos un porcentaje de extracción de alrededor del 18,15% (Solana et al., 2014).

5.3. Métodos mecánicos

Los métodos mecánicos de extracción de lípidos de las microalgas están dirigidos a la ruptura de la pared celular. Estos métodos no están plenamente desarrollados para ser aplicados a nivel industrial como alternativa a los disolventes. Sin embargo, pueden utilizarse para mejorar la eficiencia de la extracción como complemento de los disolventes. Así, la cantidad de productos químicos tóxicos utilizados se reduce considerablemente (Gorgich et al., 2020). Algunos de ellos se explican a continuación.

5.3.1. Prensa tipo expeller

La prensa tipo expeller se basa en en la aplicación de una fuerza de compresión sobre la biomasa, para romper las paredes y membranas celulares, así como para extraer los

lípidos contenidos en su interior. Es muy importante controlar la presión ejercida, ya que presiones extremadamente altas pueden calentar la biomasa, y en consecuencia, la calidad de los lípidos extraídos disminuye (Gorgich et al., 2020).

Las principales ventajas son su bajo coste y las bajas temperaturas de funcionamiento requeridas (Pacheco Ortiz et al., 2015; Batista et al., 2016). Usando esta tecnología en *Chlorella pyrenoidosa* H. Chick, se ha demostrado que, con ciclos de baja presurización (300 s a 91.4 kPa + 300 s a 200 kPa por ciclo), durante 7 h y en un medio etanólico, se obtiene una extracción de lípidos del 72% (Batista et al., 2016). Del mismo modo, Pieber et al., 2012 llevaron a cabo la extracción de lípidos en *Nannochloropsis oculata* Droop, concluyendo que el metanol es el disolvente óptimo en este caso.

5.3.2. Ultrasonidos

La aplicación de ondas de ultrasonido en la biomasa permite simular ciclos de altas y bajas presiones en las células de las microalgas, evitando la generación de calor que implica el aplastamiento. Las ondas de ultrasonido penetran en la biomasa, se propagan entre las células y causan cavitación. Así, se forman burbujas de baja presión en el medio líquido. Debido a la baja presión en el interior, las burbujas chocan entre sí violentamente. Estos choques tienen suficiente energía para romper las paredes de las células y liberar los metabolitos (Anto et al., 2020). Se ha demostrado que una frecuencia de 20 kHz es suficiente para lograr la extracción de los lípidos (S. J. Lee et al., 1998a).

Este método físico también ha sido investigado por Suarsini & Subandi, 2011 en las especies *Thalassiosiria fluviatilis* y *Thalassiosiria pseudonana*, lográndose extracciones de lípidos del 40,3 y 39,5% respectivamente.

5.3.3. Microondas

Las microondas se utilizan para calentar las moléculas de agua, que son polares. Esto se debe a la rotación de los dipolos donde una molécula polar trata de alinearse en el campo magnético (Velazquez-Lucio et al., 2018). Este fenómeno hace que eventualmente se vaporicen las moléculas de agua y como resultado, causan la ruptura de los enlaces de hidrógeno en las células ejerciendo presión en las paredes de las mismas (Kapoore et al., 2018). Por lo tanto, este método es apropiado para la extracción de lípidos de la biomasa húmeda. Se suelen utilizar ondas con una frecuencia entre 0,3 - 300 GHz (Gorgich et al., 2020).

5.4. Nuevos métodos

Además de los métodos de extracción de lípidos explicados anteriormente, existen investigaciones y estudios recientes sobre el desarrollo de nuevos métodos de extracción. Estos incluyen la extracción con disolventes con hidrofilia conmutable (Boyd et al., 2012); la extracción y deshidratación simultáneas de la biomasa húmeda utilizando gases licuados, como el dimetil éter (DME) como disolvente de extracción (P.

Li et al., 2014); la extracción de lípidos utilizando un campo eléctrico pulsado, un método estudiado por Flisar et al., 2014, quienes lograron un rendimiento de extracción de lípidos microalgales del 22%.

Tabla 4.

Ventajas y desventajas de las diferentes técnicas de extracción de lípidos.

Método	Ventajas	Desventajas	Ref.
Disolventes convencionales	Rápido y de fácil procesado. Eficiente y fiable. Algunos disolventes logran una fácil solubilidad de los lípidos. El rendimiento aumenta si se optimiza la proporción de disolventes y el tiempo de extracción. Existencia de disolventes verdes (2-metiltetrahidrofurano): respetuosos con el medio ambiente, menos tóxicos, renovables y biodegradables	Gran demanda energética para recuperar los disolventes. Problemas ambientales y perjudiciales para la salud. Presencia de residuos de disolventes tras la extracción.	Castillo et al., 2017 Khoo et al., 2020 Borowitzka & Moheimani, 2013 Kumar et al., 2015 Anto et al., 2020 Li et al., 2019 Gorgich et al., 2020
Fluidos supercríticos	Respetuoso con el medio ambiente, no tóxico, sin residuos de disolventes (bajo costo de purificación). Tiempo de extracción bajo. Transferencia de masa eficiente. Mayor recuperación de lípidos que con disolventes tradicionales.	Se requieren altas presiones. Alta demanda energética. Alto costo operacional y de equipo. Necesario un pretratamiento de la biomasa.	Li et al., 2019 Khoo et al., 2020 Jeevan Kumar et al., 2017 Anto et al., 2020
Prensa tipo expeller	Método simple.	El exceso de presión lleva a una menor recuperación de los lípidos y a una menor calidad de los lípidos extraídos. Presencia de pigmentos de color con los lípidos extraídos, que deben ser eliminados con métodos adicionales (más costosos).	Gorgich et al., 2020 Bux & Ramesh, 2013
Ultrasonidos	Proceso ecológico. Gran tasa de extracción. Bajo tiempo de extracción. Menor consumo de disolventes. Mayor penetración en la célula microalcalina. No tiene efectos en el perfil de los ácidos grasos.	Demanda intensiva de energía. Se requiere un secado posterior. Costoso. Difícil de escalar. La exposición prolongada a ultrasonidos puede crear radicales libres.	Li et al., 2019 Kumar et al., 2015 Anto et al., 2020
Microondas	Reducción del tamaño del equipo. Eliminación de varios subprocesos. Aumento de la producción y bajo uso de disolventes.	Demanda intensiva de energía. La generación de ondas de alta frecuencia puede destruir la biomasa por inducción de choque. Alto coste de mantenimiento. Difícil de escalar.	Li et al., 2019 Kumar et al., 2015 Anto et al., 2020
Disolventes con hidrofilia conmutable	Baja demanda de energía. Fácil recuperación de disolventes. Adecuado para la extracción en húmedo. Reutilización del disolvente. Extracción eficiente. No es peligroso. Se elimina el proceso de deshidratación.	Baja velocidad de extracción. Se necesita mayor investigación del método.	Li et al., 2019 Khoo et al., 2020 Jeevan Kumar et al., 2017 Anto et al., 2020

Gases licuados	Alta demanda energética.	En desarrollo.	Li et al., 2019
Líquidos iónicos	Disolventes verdes, no inflamables, estabilidad térmica, no volatilidad, reciclabilidad.	Incertidumbre sobre su resistencia a la degradación térmica, la toxicidad y la hidrólisis durante el uso. Alto costo económico. Baja solubilidad de los lípidos. Los líquidos iónicos hidrofóbicos e inmiscibles en agua tienen una menor eficiencia de extracción. El escalado es difícil.	Khoo et al., 2020 Anto et al., 2020 Khoo et al., 2020 Jeevan Kumar et al., 2017
Campo eléctrico pulsado	La ruptura celular puede hacerse directamente en el mismo reactor	Bajos rendimientos debido a problemas de recuperación y cuantificación de lípidos.	Flisar et al., 2014 Castillo et al., 2017

Tabla 5.

Ventajas y desventajas de los métodos convencionales de extracción de lípidos con disolventes .

Métodos convencionales de extracción	Ventajas	Desventajas	Ref.
Método Soxhlet	Técnica simple. Se obtienen lípidos aislados, que pueden ser usados directamente para la conversión en biocombustible.	Alta demanda energética. Se requieren largos períodos de tiempo.	Kumar et al., 2015 Khoo et al., 2020
Método Folch	Técnica rápida, simple y eficiente para la extracción de grandes cantidades de lípidos.	Utilización de productos químicos peligrosos que causan un aumento del coste operacional. Menos sensible comparado con otros procedimientos más recientes.	Kumar et al., 2015 Khoo et al., 2020 Gorgich et al., 2020
Método Bligh and Dyer	Alta eficiencia de extracción de lípidos.	Uso de grandes cantidades de disolventes tóxicos, como el cloroformo.	Khoo et al., 2020

Tabla 6.

Comparación del uso de CO₂ supercrítico y agua supercrítica para la extracción de lípidos.

Fluidos supercríticos	Ventajas	Desventajas	Ref.
CO₂ supercrítico	Alta selectividad. Alta eficiencia en la extracción de sustancias ligeramente polares, como los lípidos. El rendimiento de la extracción puede mejorarse utilizando etanol como cosolvente. La masa restante puede ser utilizada para producir biohidrógeno por medio de la fermentación con bacterias. No se requieren altas temperaturas. Reduce el efecto invernadero reciclando el CO ₂ .	Se requiere un secado y la ruptura celular combinados con la liofilización. Necesidad de altas presiones. Alta demanda energética. Problemas de seguridad. Baja solubilidad en los lípidos polares. Con frecuencia se requieren procedimientos de purificación posteriores debido a la presencia de clorofila y carotenoides.	Li et al., 2019 Khoo et al., 2020 Lorenzen et al., 2017 Nobre et al., 2013 Castillo et al., 2017
Agua supercrítica	Puede usarse en múltiples productos.	Se requiere un secado y la ruptura celular combinados con la liofilización. Alta demanda energética.	Li et al., 2019

La extracción de lípidos se lleva a cabo mediante una combinación de los métodos mencionados anteriormente (y otros), con el objetivo de lograr el mayor rendimiento. Además de esto, se debe llevar a cabo un pretratamiento celular, así como varios pasos de purificación y acondicionamiento final. Así, [Mutsumi Takagi et al., 2006](#), y después [Chiu et al., 2009](#) desarrollaron un método de extracción de lípidos de microalgas que integraba procesos previos de centrifugación, lavado de células con agua desionizada y secado por liofilización; seguido de una extracción con disolvente (metanol:cloroformo:agua), extracción por sonicación (1 h), y etapas de centrifugación y evaporación finales.

6. ANÁLISIS AMBIENTAL Y ECONÓMICO DE LAS TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN Y EXTRACCIÓN

Como ya se ha visto, son varias las técnicas disponibles para llevar a cabo la cosecha, la deshidratación y la extracción de lípidos. Por lo tanto, en algunos casos es difícil elegir el método más apropiado. Por ello, el análisis del ciclo de vida (ACV; Life Cycle Assessment, LCA en inglés) y el análisis tecnoeconómico (ATE; Technoeconomic Analysis, TEA en inglés) evalúan la viabilidad de diversos sistemas de recolección para su aplicación comercial sobre la base de los impactos ambientales y tecnoeconómicos, para poder elegir fácilmente la estrategia conveniente.

Sin embargo, los resultados obtenidos del ACV no suelen ser concluyentes, ya que las suposiciones de cada autor en la literatura (procedimientos de cultivo de algas, contenido en lípidos, aplicación de los productos finales, especies de microalgas utilizadas...) son diferentes. Además, los resultados sobre viabilidad económica preparados por la TEA, tampoco conducen a una conclusión clara sobre el capital y el coste de explotación del proceso. Se requieren muchos estudios e investigaciones para probar la viabilidad de cada método ([Roy & Mohanty, 2019](#)).

Por otro lado, la determinación del total de las emisiones de Gases de Efecto Invernadero, GEI, asociadas a cada una de las técnicas y métodos estudiados tampoco es tarea fácil. Esto se debe principalmente a dos factores: los datos limitados disponibles sobre la producción a gran escala y el gran número de variantes que pueden llevarse a cabo en cada proceso. Así, la producción sostenible de biocombustibles a partir de algas no se ha comercializado todavía, porque los impactos ambientales, los estudios de viabilidad y la evaluación económica del proceso están todavía en continuo análisis y desarrollo ([Adesanya et al., 2014](#)).

6.1. Eficiencias y costes

Con frecuencia, tanto la eficiencia de cada método como los costos asociados se expresan en términos cualitativos. Estos análisis cualitativos resultan interesantes para hacer una elección previa entre las tecnologías existentes (Tabla 1). Sin embargo, a veces se hace necesario tener acceso a un análisis cuantitativo más riguroso, con datos específicos sobre las eficiencias, los costos y el consumo de energía, así como el impacto ambiental que generan.

Por esta razón, la Tabla 7 y la Tabla 8 (para la recolección y deshidratación de microalgas) y la Tabla 9 y la Tabla 10 (para la extracción de lípidos) ofrecen una visión cuantitativa de las eficiencias obtenidas en la aplicación de estos métodos, y de los costos asociados a cada una de estas tecnologías, hecha a partir de estudios e investigaciones anteriores encontrados en la literatura. Además, cabe destacar que no se suele evaluar la interacción entre las diferentes unidades de operación. Esta interacción es importante ya que, como se ha mencionado anteriormente, estos procesos se llevan a cabo mediante una combinación de varios métodos, y algunas combinaciones son más favorables que otras. En Tabla 11, Tabla 12 y Tabla 13 se muestra la viabilidad tecnoeconómica de algunas de las posibles combinaciones de métodos, también recogido investigaciones de la literatura (Fasaei et al., 2018).

Dado que continuamente se están desarrollando nuevas estrategias de recolección a escala piloto, y como aún se dispone de muy pocos datos sobre ACV y ATE, es necesario llevar a cabo estos estudios para validar los métodos en base a su eficiencia energética y sostenibilidad general (Roy & Mohanty., 2019).

Tabla 7.

Eficiencias de recolección de las distintas técnicas.

Método	Eficiencia de recolección	Especie de microalga	Condiciones de operación	Ref.
Sedimentación por gravedad	10-90%	-	-	Christenson & Sims, 2011
Centrifugación	>90%	-	-	Christenson & Sims, 2011
Filtración a presión ^a	22-27%	<i>C. proboscideum</i>	Filtro de cámara Hetzsch. Operación discontinua. Un paso.	Molina Grima et al., 2003
Filtración a vacío ^a	8%	<i>C. proboscideum</i>	Filtro de succión. Operación discontinua. Un paso.	Molina Grima et al., 2003
Filtración con membrana	100%	-	Filtración de flujo cruzado con una membrana metálica de lámina fina.	Marrone et al., 2018
Flotación con aire	50-90%	-	-	Christenson & Sims, 2011
Separación magnética	98%	<i>C. ellipsoidea</i> (0,75 g/L)	Nanopartícula magnética de Fe ₃ O ₄ como floculante. Tiempo óptimo de recolección: 1 min	Matter et al., 2019 Ling Xu et al., 2011
Autofloculación	95%	<i>C. ellipsoidea</i> (4,38 g/L)	pH 4,0 Tiempo óptimo de recolección: 15 min	Matter et al., 2019 Liu et al., 2013b
	95%	<i>C. vulgaris</i> (0,50 g/L)	pH 11,0 Tiempo óptimo de recolección: 60 min	Matter et al., 2019 Vandamme et al., 2012
Biofloculación	90%	<i>C. vulgaris</i> (5,00 g/L)	<i>S. pastorianus</i> (0,4 mg/g célula) como floculante (levadura). Tiempo óptimo de recolección: 70 min	Matter et al., 2019 Prochazkova et al., 2015
	99%	<i>C. vulgaris</i> (2,30 g/L)	Cáscara de huevo rica en CaCO ₃ (80 mg/L) como floculante inorgánico. Tiempo óptimo de recolección: 20 min	Matter et al., 2019 H. J. Choi, 2015
Floculación química	99%	<i>C. vulgaris</i> (1,00 g/L)	Chitosan (120 mg/L) como floculante orgánico Tiempo óptimo de recolección: 3 min.	Matter et al., 2019 Rashid et al., 2013
Floculación con partículas	97%	<i>C. vulgaris</i> (1,00 g/L)	Mg-APTES (nanopartícula basada en aminoácidos) como floculante. Tiempo óptimo de cosecha: 125 min	Matter et al., 2019 Farooq et al., 2013
Floculación electroquímica	98%	<i>C. vulgaris</i>	Electrodo de Al (de sacrificio) para la recolección de algas. Tiempo óptimo de cosecha: 4 min	Matter et al., 2019 Shi et al., 2017
	95%	<i>C. sorokiniana</i>	Electrodo de carbono (de no sacrificio). Tiempo óptimo de cosecha: 15 min	Matter et al., 2019 Misra et al., 2014

APTES: 3-aminopropiltriethoxisilano .

a: En estos casos, la eficiencia de la recolección se refiere a los sólidos suspendidos en el concentrado .

Tabla 8.

Costes estimados y energía requerida estimada de las diferentes técnicas de recolección.

Método	Coste estimado	Requerimiento energético estimado	Especie de microalga	Condiciones de operación	Ref.
Sedimentación por gravedad	-	0,05-0,1 kWh m ⁻³	-	-	Deconinck et al., 2018 Roy & Mohanty, 2019
Centrifugación	0,23 ^a € kg ⁻¹ 250000 ^b €	3,300 kWh kg ⁻¹ -	- -	- Capacidad de la centrifuga: 80 m ³ h ⁻¹	Marrone et al., 2018 Fasaei et al., 2018
Filtración a presión	0,44 ^a € kg ⁻¹ 75900 ^b €	0,96 kWh kg ⁻¹ -	- -	Tanque abierto. Capacity/size of the pressure filter (plate): 50 m ²	Fasaei et al., 2018
Filtración a vacío	0,96 ^a € kg ⁻¹ 240000 ^b €	2,49 kWh kg ⁻¹ -	- -	Tanque abierto. Capacidad del filtro rotativo de vacío: 50 m ²	Fasaei et al., 2018
Filtración con membrana	-	0,91 kWh m ⁻³	-	Membrana de PVDF Eficiencia de recolección: 98-99%	Bilad et al., 2012 Roy & Mohanty, 2019
	0,043 ^a € kg ⁻¹	-	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Membrana de PNM Eficiencia de recolección: 94%	Sahoo et al., 2017 Roy & Mohanty, 2019
Flotación con aire	0,02-0,04 ^a € kg ⁻¹	0,16-0,44 kWh kg ⁻¹	-	Eficiencia de recolección: 49,5%	Roy & Mohanty, 2019
Separación magnética	-	6,5 kWh m ⁻³	<i>Botryococcus braunii</i>	Eficiencia de recolección: 98%	Ling Xu et al., 2011 Pahl et al., 2013 Roy & Mohanty, 2019
Autofloculación	0,12 ^a € kg ⁻¹	0,02–0,2 kWh m ⁻³	<i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Scenedesmus sp</i> ,	Modificación de pH Eficiencia de recolección: 90%	Z. Wu et al., 2012 Roy & Mohanty, 2019
Floculación química	0,050 ^a € kg ⁻¹	0,120 kWh kg ⁻¹	-	Floculación con AlCl ₃ Costes químicos + costes de electricidad.	NAABB, n.d.
Floculación electroquímica	-	1,6 kW h kg ⁻¹	<i>Chlorella sorokiniana</i>	Electrodo de carbón (de no sacrificio) Eficiencia de recolección: 94,52%	Misra et al., 2014 Roy & Mohanty, 2019
Floculación con partículas	48,14 ^a € kg ⁻¹	0,008 kWh kg ⁻¹	-	Nanopartículas mesoporosas	Marrone et al., 2018

PVDF: difluoruro de polivinileno; PNM: membrana de tela no tejida de polipropileno; La unidad de masa (kg) es el kilogramo de algas en peso seco sin cenizas (ash-free dry weight, AFDW) producido.

a: Gastos operativos (Operational Expenses, OPEX), incluyendo el coste de los productos químicos (si los hay) y el coste de la electricidad; b: Costo de capital para cada equipo/material de la técnica de recolección.

Tabla 9.

Rendimientos de recuperación de lípidos de las diferentes técnicas de extracción .

Método	Rendimiento de recuperación de lípidos	de	Especie de microalga	Condiciones de operación	Ref.
Conventional solvents					
Método Soxhlet	12%		<i>Acutodesmus Obliquus</i>	Hexano:etanol (2:1 v/v)	Khoo et al., 2020 Flisar et al., 2014
Método Folch	75,50%		<i>Nannochloropsis oculata</i>	Cloroformo:methanol (2:1 v/v)	Khoo et al., 2020 Soares et al., 2014
Método Bligh and Dyer	8,30%		<i>Chlorella vulgaris</i>	Cloroformo:metanol:suspensión celular (2:2:1.8 v/v)	Khoo et al., 2020 Ellison et al., 2019
Fluidos supercríticos					
	12,5 ± 0,6%		<i>Chlorella vulgaris</i>	50 °C, 45 MPa, 2 h	Khoo et al., 2020 Obeid et al., 2018
	97,0 ± 0,5%		<i>Chlorella vulgaris</i>	50 °C, 45 MPa, 3,5 h Etanol (10% v/v) como co-solvente	Khoo et al., 2020 Obeid et al., 2018
Métodos mecánicos					
Prensa tipo expeller	72%		<i>Chlorella pyrenoidosa</i> <i>H.Chick</i>	Ciclos de presión: 91,4 kPa;300 s + 200 kPa;300 s Tiempo: 7 h, medio etanoico	Castillo et al., 2017 Batista et al., 2016
Ultrasonidos	40,3%		<i>Thalassiosiria fluviatilis</i>	-	Castillo et al., 2017 Neto et al., 2013
Líquidos iónicos					
	68,0%		<i>Chlorella vulgaris</i>	FeCl ₃ ·6H ₂ O:[EMIM]OAc (5:1) como líquido iónico 110°C, 2 h	Khoo et al., 2020 S. A. Choi et al., 2014
Disolvente verde conmutable					
	12,35 ± 3,18%		<i>Chlorella vulgaris</i>	EBA como solvent verde. 50 °C, 8000 rpm durante 2 min seguido de 30 min de burbujeo de CO ₂ + 10 mL hexano	Khoo et al., 2020 Al-Ameri & Al-Zuhair, 2019

EBA: N-etilbutilamina; EMIM: cloruro de 1-etil-3-metilmidazolio.

Tabla 10.

Costes estimados y energía requerida estimada de las diferentes técnicas de extracción.

Método	Coste estimado	Requerimiento energético estimado	Condiciones de operación	Ref.
Solventes convencionales	0.0089 ^a € kg ⁻¹	0.110 kWh/kg	Extracción húmeda con hexano	Marrone et al., 2018
Método Soxhlet	916.11 ^b € kg ⁻¹	-	Hexano como disolvente	de Jesus et al., 2019
Método Folch	5418.31 ^b € kg ⁻¹	-	2-MeTHF:Isoam (2:1 v/v) como solvente	de Jesus et al., 2019
Método Bligh and Dyer	6518.00 ^b € kg ⁻¹	-	2-MeTHF:Isoam (2:1 v/v) como solvente	de Jesus et al., 2019
Fluidos supercríticos	0.083 € kg ⁻¹	1.174 kWh kg ⁻¹	Coste de electricidad	NAABB, n.d.
Métodos mecánicos				
Ultrasonidos	0.027 € kg ⁻¹	0.384 kWh kg ⁻¹	Coste de electricidad	NAABB, n.d.
Campo eléctrico de pulso	0.820 € kg ⁻¹	11.52 kWh kg ⁻¹	Coste de electricidad	Marrone et al., 2018

a: Gastos operativos (Operational Expenses, OPEX), incluyendo el coste de los productos químicos (si los hay) y el coste de la electricidad; b: precio para producir 1 kg de ácidos grasos.

6.2. Emisiones de Gases de Efecto Invernadero (GEI)

El consumo energético de las diferentes rutas y escenarios de recolección y extracción de lípidos que se encuentran en la literatura se muestra en [Tabla 11](#), [Tabla 12](#) y [Tabla 13](#). A partir de este consumo de energía, se han calculado las emisiones de GEI asociadas (teniendo en cuenta únicamente el consumo de electricidad). Para ello se han hecho las siguientes suposiciones:

- Según [Martinez-Guerra & Gude, \(2016\)](#), el contenido energético de las microalgas es de 5-8 kWh/kg de microalga seca. Para el cálculo se toma el valor de 7 kWh/kg de microalga seca.
- La energía necesaria para obtener masa de microalga seca es de 3,3 kWh/kg de microalga seca obtenido ([Martinez-Guerra & Gude, 2016](#)).
- Las emisiones de CO₂ equivalente asociadas al consumo de electricidad son de 0,483 kg CO₂/kWh consumidos.

Es importante señalar que los datos sobre el consumo de energía se han reunido a partir de diferentes fuentes bibliográficas, con diferentes condiciones, consideraciones y supuestos hechos por cada autor. Algunos estudios se refieren únicamente al pretratamiento, mientras que otros informan sobre el consumo de energía específico de todo el proceso. Por otra parte, algunos estudios se basan únicamente en el análisis de la entalpía del proceso (no representa la energía real suministrada). Además, las microalgas utilizadas en cada estudio son diferentes, por lo que sus características físicas son distintas. Otro factor importante que hay que tener en cuenta es la diferente escala a la que se realizan los respectivos estudios. Todos estos factores conducen a errores experimentales. Por lo tanto, estos valores deben ser considerados como datos relativos, que sirven para dar una idea general del consumo de energía de cada proceso estudiado ([Martinez-Guerra & Gude, 2016](#)).

Tabla 11.

Sinopsis del consumo de energía, los costes y las emisiones de GEI para diferentes combinaciones de técnicas de recolección y deshidratación en estanques abiertos (400 m³·hr⁻¹, 0,5 kg·m⁻³) (adaptado de [Fasaei et al., 2018](#)).

Rutas	Técnica(s) de recolección			Energía requerida (kWh kg ⁻¹)	Coste (€ kg ⁻¹)	GEIs (g CO ₂ eq/MJ producido)
1	Filtro de membrana	Centrífuga	-	4,24	1,45	81,27
2	Filtro de membrana	Placa espiral	-	4,25	1,52	81,46
3	Filtro a presión	Centrífuga	-	1,03	0,50	19,74
4	Floculación catiónica	Filtro de membrana	Filtro a presión	0,06	1,20	1,15
5	Floculación catiónica	Filtro a presión	-	0,03	1,13	0,58
6	Floculación catiónica	Centrífuga	-	0,07	1,18	1,34
7	Floculación con Chitosan	Filtro de membrana	Filtro a presión	0,06	0,43	1,15
8	Floculación con Chitosan	Filtro de membrana	Filtro a vacío	0,08	0,44	1,53
9	Floculación con Chitosan	Filtro de membrana	Centrífuga	0,09	0,46	1,73
10	Floculación con Chitosan	Filtro a presión	-	0,03	0,36	0,58
11	Placa espiral	Centrífuga	-	2,23	13,73	42,74

Tabla 12.

Sinopsis del consumo de energía, los costes y las emisiones de GEI para diferentes combinaciones de técnicas de recolección y deshidratación en sistemas tubulares ($280 \text{ m}^3 \cdot \text{hr}^{-1}$, $1.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$) (adaptado de [Fasaei et al., 2018](#)).

Rutas	Técnica(s) de recolección			Energía requerida (kWh kg ⁻¹)	Coste (€ kg ⁻¹)	GEIs (g CO ₂ eq/MJ producido)
1	Filtro de membrana	Centrífuga	-	1,41	0,51	27,03
2	Filtro de membrana	Placa espiral	-	1,42	0,64	27,22
3	Filtro a presión	Centrífuga	-	0,36	0,18	6,90
4	Floculación catiónica	Filtro de membrana	Filtro a presión	0,05	1,02	0,96
5	Floculación catiónica	Filtro a presión	-	0,02	0,98	0,38
6	Floculación catiónica	Centrífuga	-	0,06	1,02	1,15
7	Floculación con Chitosan	Filtro de membrana	Filtro a presión	0,05	0,23	0,96
8	Floculación con Chitosan	Filtro de membrana	Filtro a vacío	0,07	0,24	1,34
9	Floculación con Chitosan	Filtro de membrana	Centrífuga	0,08	0,25	1,53
10	Floculación con Chitosan	Filtro a presión	-	0,02	0,19	0,38
11	Placa espiral	Centrífuga	-	0,76	4,76	14,57

Tabla 13.

Sinopsis del consumo de energía, los costes y las emisiones de GEI para diferentes combinaciones de técnicas de recolección y deshidratación en sistemas de placa plana ($250 \text{ m}^3 \cdot \text{hr}^{-1}$, $2.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$) (adaptado de [Fasaei et al., 2018](#)).

Rutas	Técnica(s) de recolección			Energía requerida (kWh kg ⁻¹)	Coste (€ kg ⁻¹)	GEIs (g CO ₂ eq/MJ producido)
1	Filtro de membrana	Centrífuga	-	0,84	0,30	16,10
2	Filtro de membrana	Placa espiral	-	0,85	0,42	16,29
3	Filtro a presión	Centrífuga	-	0,22	0,12	4,22
4	Floculación catiónica	Filtro de membrana	Filtro a presión	0,05	0,97	0,96
5	Floculación catiónica	Filtro a presión	-	0,02	0,94	0,38
6	Floculación catiónica	Centrífuga	-	0,06	0,98	1,15
7	Floculación con Chitosan	Filtro de membrana	Filtro a presión	0,05	0,18	0,96
8	Floculación con Chitosan	Filtro de membrana	Filtro a vacío	0,07	0,18	1,34
9	Floculación con Chitosan	Filtro de membrana	Centrífuga	0,08	0,19	1,53
10	Floculación con Chitosan	Filtro a presión	-	0,02	0,15	0,38
11	Placa espiral	Centrífuga	-	0,46	2,87	8,82

A la vista de los resultados obtenidos, se puede observar que las rutas con menores requerimientos de energía, y por consiguiente, menores emisiones de GEI, son las que utilizan técnicas de floculación, aunque también suelen implicar mayores costos asociados. Es importante recalcar que sólo se han tenido en cuenta las emisiones de GEI derivadas del consumo de electricidad.

7. PROCESOS DE TRANSFORMACIÓN DE LÍPIDOS (ÁCIDOS GRASOS) EN BIOCOMBUSTIBLES

Una vez que se han extraído los lípidos de las microalgas, es necesario llevar a cabo varias transformaciones químicas y físicas para obtener el biocombustible deseado. Estos lípidos contienen ácidos grasos y compuestos de triglicéridos, capaces de ser convertidos en ésteres de alcohol (biodiesel), utilizando la tecnología tradicional de

transesterificación. Alternativamente, estos lípidos también pueden utilizarse para producir un producto diesel renovable o "verde" mediante un proceso conocido como hidroprocesamiento catalítico (Nrel, 2010).

7.1. Desgomado

En algunos lípidos, resulta conveniente realizar un tratamiento previo antes de la reacción de transformación química (ya sea transesterificación o hidroprocesamiento catalítico). El objetivo es eliminar impurezas como fosfátidos hidratables, triglicéridos y azúcares, ya que su presencia provoca turbidez y requiere mayor cantidad de catalizador. El desgomado consiste en la floculación de todas estas sustancias disueltas o suspendidas, para separarlas del aceite. Para ello se utiliza una solución acuosa con una pequeña cantidad de ácido cítrico o fosfórico. Gracias a esta solución, estas impurezas se sedimentan y finalmente se eliminan por centrifugación y/o filtración (Alonso Castro, 2014).

7.2. Transesterificación

La transformación de los ácidos grasos en biocombustible se lleva a cabo mediante un proceso químico reversible, conocido como transesterificación, que consiste en la transferencia de un grupo acil entre un éster (en este caso, un triglicérido) y un alcohol (generalmente etanol o metanol), en presencia de un catalizador. Tradicionalmente se ha preferido utilizar metanol porque es más accesible económicamente, pero hoy en día el uso de etanol está aumentando, ya que puede obtenerse a partir de la biomasa (renovable y respetuosa del medio ambiente), no es tóxico y produce biodiésel con un índice de cetano más elevado (Alonso Castro, 2014).

Los productos de la transesterificación son el biodiésel (ésteres metílicos o etílicos, según el alcohol utilizado) y la glicerina. Este proceso se divide en tres reacciones en serie reversibles, en las que el triglicérido se transforma en diglicérido, monoglicérido y finalmente en glicerina, acompañando al biocombustible deseado (Castillo et al., 2017). La reacción global se muestra en la Figura 15.

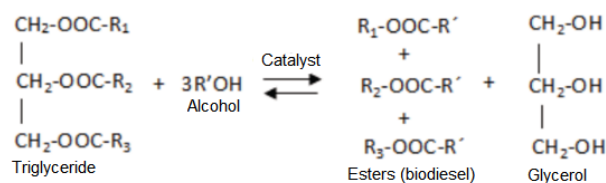


Figura 15. Reacción de transesterificación para la producción de biodiesel (adaptado de Castillo et al., 2017).

Esta reacción requiere habitualmente el uso de catalizadores. Estos pueden ser homogéneos (ácidos o básicos) o heterogéneos. El NaOH, KOH y H₂SO₄ son algunos de

los típicos catalizadores homogéneos. Sin embargo, estos catalizadores generan corrosión y un impacto ambiental significativo. Además, las temperaturas y los tiempos requeridos son muy elevados. Por consiguiente, se están estudiando diferentes alternativas ([Castillo et al., 2017](#); [Teo et al., 2014](#)). En la [Tabla 14](#) se resumen las principales ventajas y desventajas de cada una de las alternativas. Algunos de los posibles sustitutos son el metóxido de calcio en presencia de metanol, el catalizador mixto de óxido de calcio y magnesio sobre alúmina ([Teo et al., 2014](#)), catalizador de cloruro de acetilo al 5%, ([Macías-Sánchez et al., 2015](#)) y diversos catalizadores de sales de estaño (II), como el cloruro de estaño y el acetato de estaño.

Otra posibilidad es la catálisis enzimática (biocatálisis), que implica el trabajo con las lipasas ([Ladero & Calvo, 2013](#)). Algunas de ellas ya se han comercializado (Novozym 435, Lypozime RM IM, Lypozime TL IM) ([Yan et al., 2014](#); [Castillo et al., 2017](#)). La principal fuente de lipasas son los hongos (levadura y hongos filamentosos). Esta vía ofrece ventajas, como bajos requerimientos energéticos, biocombustible de alta calidad, baja generación de residuos ([Meng et al., 2014](#)), temperaturas de funcionamiento moderadas, posibilidad de reutilización y alta especificidad de la enzima ([Christopher et al., 2014](#)). A pesar de estas ventajas, el método no es económicamente viable debido al coste de los procesos de aislamiento, purificación e inmovilización, y a la baja estabilidad de las lipasas en medio etanólico ([Ognjanovic et al., 2009](#); [Castillo et al., 2017](#)).

Además, la transesterificación in situ (o transesterificación directa) es un proceso en el que la extracción y la transesterificación se producen simultáneamente, lo que ofrece algunas ventajas con respecto al proceso de producción de biodiésel convencional ([J. Kim et al., 2013](#)). La transesterificación in situ puede ser mecánica, aunque también pueden utilizarse co-solventes, fluidos supercríticos o líquidos iónicos ([Tabla 15](#)). La posibilidad de emplear cosolventes (como el terc-butil metil éter) ha sido estudiada por [Minguillán, 2011](#). Estas sustancias favorecen la solubilidad del metanol en los triglicéridos y, por lo tanto, incrementan la velocidad de reacción. Por otro lado, el uso de fluidos supercríticos para promover la transesterificación ha sido objeto de estudio por [Ladero & Calvo, 2013](#). Las condiciones de operación alcanzadas deben ser superiores al punto crítico del alcohol utilizado. En unos pocos minutos, se logran conversiones superiores al 99%. Sin embargo, esta tecnología no es económicamente posible debido a las importantes cantidades de alcohol requeridas y a las condiciones extremas de temperatura y presión ([Tan et al., 2011](#)).

Tabla 14.

Ventajas y desventajas de los diferentes métodos de transesterificación catalítica (adaptado de [Kim et al., 2013](#)).

Transesterificación catalítica	Ventajas	Desventajas	Ref.
Base homogénea	Alta velocidad de reacción. Bajo coste. Condiciones de reacción moderadas.	Dependiente de los FFA y del agua. Necesidad de gestión de los residuos.	Schuchardt et al., 1998 Ramadhas et al., 2005
Ácido homogéneo	No depende de los FFA. Esterificación y transesterificación simultáneas.	Baja velocidad de reacción. Corrosión. Alta temperatura de extracción. Necesidad de gestión de los residuos.	Vicente et al., 2004b Fukuda et al., 2001 Kawashima et al., 2009 Vyas et al., 2010
Catálisis heterogénea	Esterificación y transesterificación (ácida) simultáneas. Menos residuos.	Dependiente de los FFA y del agua. Alta temperatura de reacción. Alto coste.	Lam & Lee, 2012 Leung et al., 2010 Umdu et al., 2009
Enzima homogénea	No dependiente de los FFA. Menos residuos.	Control del pH. Desnaturalización (dependiente del alcohol). Inmovilización. Alto coste.	Jegannathan et al., 2008 Suali & Sarbatly, 2012

FFA: Free fatty acids (ácidos grasos libres).

Tabla 15.

Resumen de la transesterificación in-situ (adaptado de [Kim et al., 2013](#)).

Transesterificación in-situ	Ventajas	Desventajas	Ref.
Mecánica	Alto rendimiento de conversión. Condiciones de reacción moderadas.	Dependiente del agua. Alto consumo de energía debido al proceso de secado previo.	Patil et al., 2012 Ehimen et al., 2012
Sistema co-solvente	Puede ser ecológico.	Dependiente del agua. Dependiente de la especie. Bajo rendimiento de conversión.	R. Xu & Mi, 2011 Lee et al., 1998b
Con líquidos iónicos	No depende del FFA. Fácil optimización para una reacción específica. Presión de vapor insignificante. Reciclable.	Alto coste. Toxicidad. Dependencia del agua.	Y. H. Kim et al., 2012 Young et al., 2011

FFA: Free fatty acids (ácidos grasos libres).

7.3. Purificación

Después de la reacción de transesterificación, es necesario purificar el producto obtenido. Este acondicionamiento final consiste en una separación de fases, un lavado y un secado.

Separación de fases: La glicerina y el biodiésel se separan espontáneamente por sedimentación gravitacional. La fase más densa es la glicerina. El biodiésel obtenido se centrifuga para eliminar el etanol que no ha reaccionado.

Lavado y secado: El biodiésel se trata con silicato de magnesio, al 2% en peso, y con agitación. Después el producto se decanta y se filtra ([Alonso Castro, 2014](#)).

7.4. Hidroprocesamiento

El hidroprocesamiento constituye una ruta alternativa a la transesterificación. En este proceso, los lípidos extraídos de las microalgas reaccionan con el hidrógeno, en presencia de un catalizador, y luego se isomerizan. Como resultado, se obtiene una mezcla de alcanos, CO₂, CO y agua (Figura 16). La mezcla de alcanos puede fraccionarse para obtener queroseno sintético para reactores y diesel renovable derivado de la hidrogenación (HDRD) o diesel "verde". El HDRD es compatible con los procesos e instalaciones petroleras existentes, y puede mezclarse con productos del petróleo en cualquier proporción (Nrel, 2010).

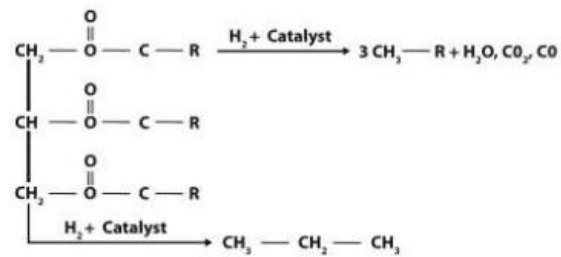


Figura 16. Reacción de hidroprocesamiento (de Nrel, 2010).

8. DISEÑO DE UNA PLANTA DE PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS DE MICROALGAS

8.1. Introducción

A fin de aplicar y sintetizar toda la información sobre el proceso de obtención de lípidos a partir de microalgas, se propone y presenta a continuación un proyecto de diseño de una planta industrial con dicho propósito.

8.2. Alcance

Los objetivos y el alcance de la Planta de producción de lípidos microalgales (ALGLIPY) diseñada se explicarán en detalle a continuación:

1. Alcanzar una producción diaria de 10 toneladas de lípidos, a partir del cultivo de la especie de microalga *Chlorella vulgaris*, obtenida del Culture Collection of Algae and Protozoa (CCAP), Dunbeg, Escocia.
La corriente de lípidos obtenida se utilizará para la posterior producción de biodiésel.
El alcance de esta planta diseñada abarcará el cultivo, la recolección, la deshidratación, la extracción y la purificación de las microalgas.
Sin embargo, la transformación de los lípidos obtenidos en biodiésel está fuera de los límites de la batería de esta planta y debe llevarse a cabo externamente, en otra planta ajena destinada a ello.
2. Maximizar el rendimiento global de la planta diseñada, considerando diferentes alternativas que permitan el uso de residuos secos de biomasa. Se propone la digestión anaeróbica de la biomasa residual, seguida de la combustión del biogás generado. De esta manera se obtiene parte del dióxido de carbono necesario para el crecimiento de las microalgas, con lo que se reduce considerablemente la cantidad de dióxido de carbono que se debe introducir.
3. La planta debe ser flexible y capaz de adaptarse a una posible ampliación en el futuro. Por lo tanto, las instalaciones y el proceso se diseñarán con ese fin .

8.3. Bases de diseño

En esta sección se especifican las bases de diseño del proyecto, que sirven de punto de partida para el diseño de la planta. Estas son :

- Capacidad
- Especificaciones

- Localización
- Instalaciones

8.3.1. Capacidad

This plant must produce at least a lipid flow of 10 t/d.

8.3.2. Especificaciones

- Especie de microalga

La especie de microalgas utilizada deberá ser fácilmente disponible y cultivable a gran escala. Será *Chlorella vulgaris*, obtenida de la Colección de Cultivo de Algas y Protozoos (CCAP), Dunbeg, Escocia, en el medio EG:JM (Euglena gracilis:Jaworski's Medium) y será cultivada posteriormente usando el Bold's Basal Medium, un medio de algas de agua dulce, comúnmente utilizado en el cultivo de una gran variedad de algas verdes (ver [APÉNDICE 3](#)).

- Fuentes de energía

El sistema debe ser híbrido, y tan flexible como sea posible. La selección de las fuentes de energía debe considerar la proximidad geográfica como algo imprescindible

- Eficiencia

El sistema debe registrar las mínimas pérdidas posibles en forma de biomasa residual. Para ello, se considerarán diferentes alternativas que permitan el uso de los residuos de biomasa seca.

- Sistema de control

El sistema de control deberá ser lo más predictivo e inteligente posible

- Fallos y mantenimiento

El sistema debe ser diseñado para una detección anticipada e inteligente de los fallos y para un fácil mantenimiento.

8.3.3. Localización

La planta estará ubicada en Salerno (Italia), en la capital y/o en la región.

Es necesaria la determinación de la mejor oportunidad de ubicación posible dentro de este territorio .

8.3.4. Instalaciones

Será determinado según la solicitud .

8.4. Ubicación del lugar

Para la selección de la localización se consideraron diferentes lugares, todos ellos en la región de Campaña (ITALIA). Finalmente, la opción elegida ha sido la ciudad de Salerno. Las coordenadas exactas de la posición de la planta son :

- 40° 41' 37.9"N
- 14° 47' 11.2"E

La planta estará situada en la periferia de la ciudad de Salerno, conectada a ella a través de la carretera E-45 . En la [Figura 17](#) se muestra la localización seleccionada:

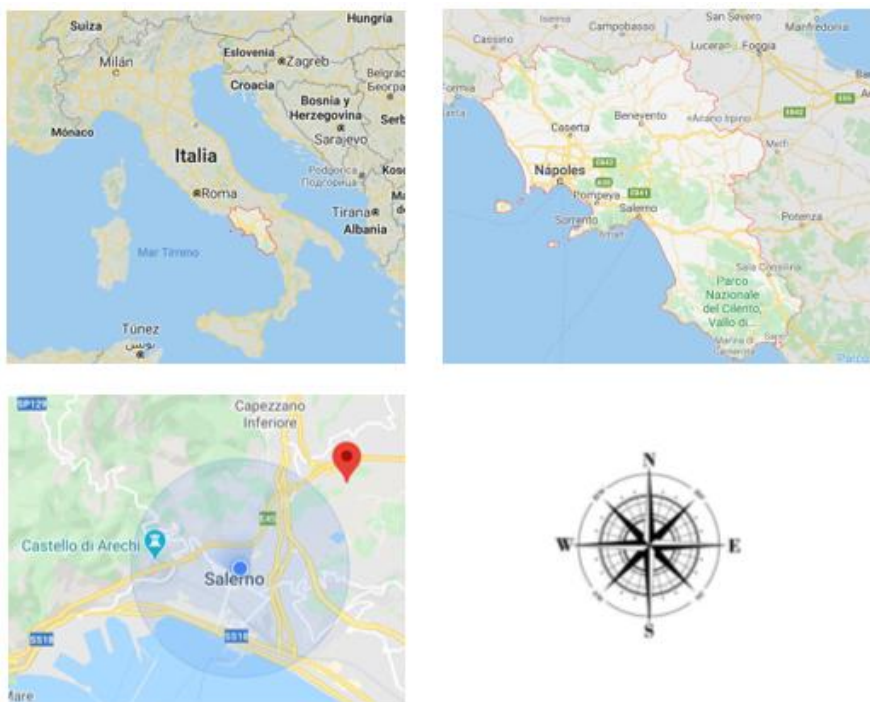


Figura 17. Localización de la planta diseñada.

8.4.1. Condiciones climáticas de Salerno

Esta sección ilustra el clima típico de Salerno, basado en un análisis estadístico de los informes meteorológicos históricos por hora y en reconstrucciones de modelos desde el 1 de enero de 1980 hasta el 31 de diciembre de 2016..

Hay 4 estaciones meteorológicas lo suficientemente cercanas como para contribuir a la estimación de la temperatura y el punto de rocío en Salerno. Las estaciones son: Capri (35%, 48 kilómetros, oeste); Aeropuerto Internacional de Nápoles (38%, 49 kilómetros, noroeste); Treviso (11%, 56 kilómetros, noreste); y Capo Palinuro (16%, 84 kilómetros, sureste). Para cada estación, los registros se corrigen por la diferencia de elevación entre esa estación y Salerno de acuerdo con la Atmósfera Estándar Internacional, y por el cambio relativo presente en el reanálisis de la era del satélite MERRA-2 entre las dos

ubicaciones. El valor estimado en Salerno se calcula como el promedio ponderado de las contribuciones individuales de cada estación, con pesos proporcionales al inverso de la distancia entre Salerno y una estación determinada..

Todos los demás datos meteorológicos, incluidos los relativos a la precipitación, la velocidad y dirección del viento y el flujo solar, proceden del análisis retrospectivo de la NASA MERRA-2 Modern-Era. Este reanálisis combina una variedad de medidas en un modelo meteorológico global de última generación para reconstruir el historial horario del clima en todo el mundo en una red de 50 kilómetros.

- Temperatura

La época de calor dura 2,9 meses, del 15 de junio al 10 de septiembre, con una temperatura media diaria alta de más de 28,3°C (83°F). El día más caluroso del año es el 4 de agosto, con un promedio de temperaturas de 32,2°C (90°F) y 22,2°C (72°F).

La estación fría dura 4 meses, desde el 20 de noviembre al 20 de marzo, con una temperatura media diaria alta por debajo de 62°F (16,7°C). El día más frío del año es el 8 de febrero, con un promedio de 6,1°C (43°F) y un máximo de 12,8°C (55°F) (Figura 18).

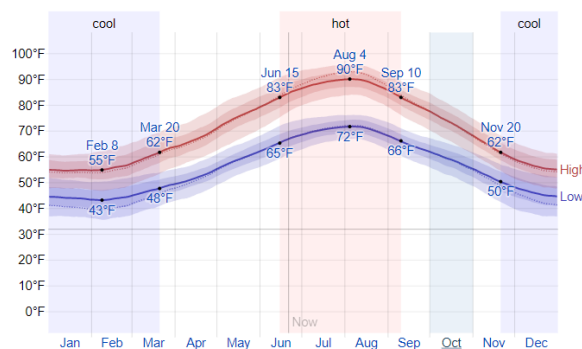


Figura 18. Promedio diario de temperatura alta (línea roja) y baja (línea azul), con bandas de percentil 25 a 75 y 10 a 90. Las líneas de puntos son las correspondientes temperaturas medias percibidas.

- Precipitaciones

Un día húmedo es aquel con al menos 0,04 pulgadas de precipitación líquida o equivalente a la líquida. La probabilidad de que haya días húmedos en Salerno varía a lo largo del año. La estación más húmeda dura 7,6 meses, desde el 16 de septiembre al 2 de mayo, con más de un 21% de probabilidad de que un día determinado sea un día húmedo. La probabilidad de un día húmedo alcanza el 35% el 3 de diciembre (Figura 19).

La estación seca dura 4,4 meses, del 2 de mayo al 16 de septiembre. La menor probabilidad de precipitación en un día húmedo es del 8% el 6 de julio.

La forma más común de precipitación a lo largo del año es la lluvia sola, con una probabilidad máxima del 35% el 3 de diciembre.

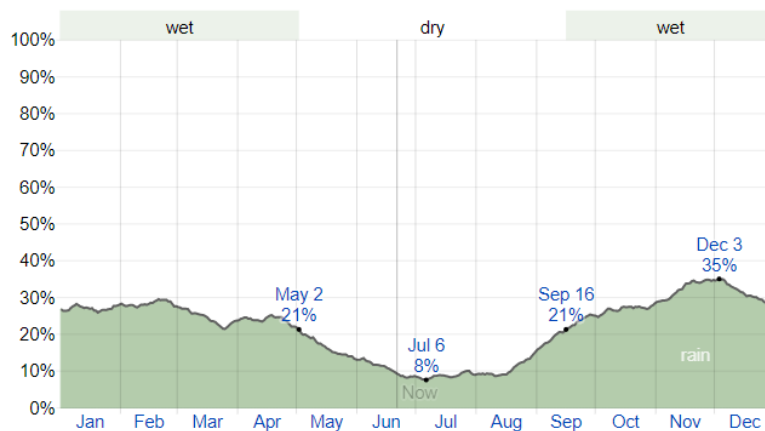


Figura 19. Posibilidad diaria de precipitaciones. Porcentaje de los días en los que se observan diversos tipos de precipitaciones.

- Luz solar

La duración del día en Salerno varía significativamente a lo largo del año. En 2020, el día más corto es el 21 de diciembre, con 9 horas y 15 minutos de luz; el día más largo es el 20 de junio, con 15 horas y 5 minutos de luz (Figura 20).

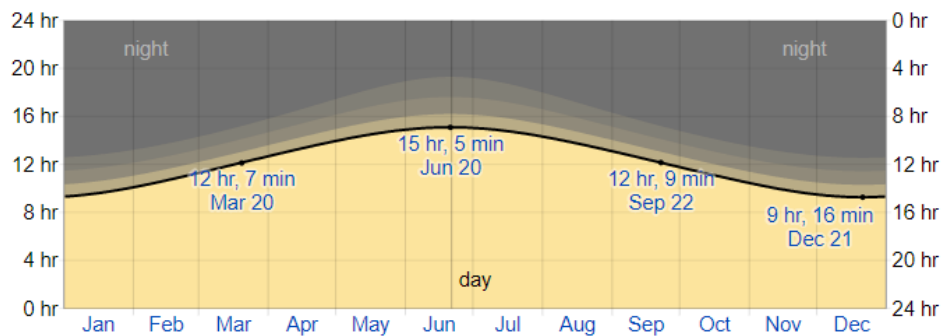


Figura 20. Horas del amanecer y del anochecer. El número de horas durante las cuales el Sol es visible (línea negra). Desde abajo (la más amarilla) hasta arriba (la más gris), las bandas de color indican: luz de día completa, anochecer (civil, náutica y astronómica) y noche completa.

- Humedad

Salerno experimenta una gran variación estacional en la humedad percibida. El período más húmedo del año dura 3,5 meses, desde el 11 de junio al 26 de septiembre, durante los cuales se experimenta humedad opresiva al menos el 13% del tiempo. El día más húmedo del año es el 9 de agosto, con condiciones húmedas el 53% del día completo (Figura 21).

El día menos húmedo del año es el 23 de febrero, cuando las condiciones húmedas son prácticamente inexistentes .

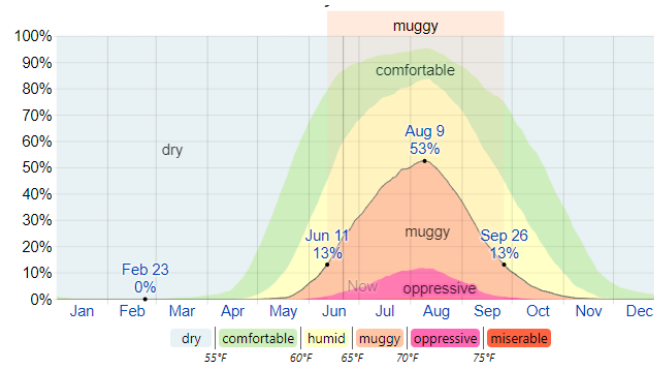


Figura 21. Porcentaje de tiempo en varios niveles de humedad, categorizado por el punto de rocío.

- Viento

La velocidad media del viento por hora en Salerno experimenta una importante variación estacional a lo largo del año. La época más ventosa del año dura 5,7 meses, desde el 22 de octubre hasta el 13 de abril, con velocidades medias de viento de más de 7,6 millas por hora. El día más ventoso del año es el 20 de diciembre, con una velocidad media del viento de 9,3 millas por hora (Figura 22).

La época menos ventosa del año dura 6,3 meses, del 13 de abril al 22 de octubre. El día menos ventoso del año es el 5 de agosto, con un promedio de velocidad del viento de 5,9 millas por hora.

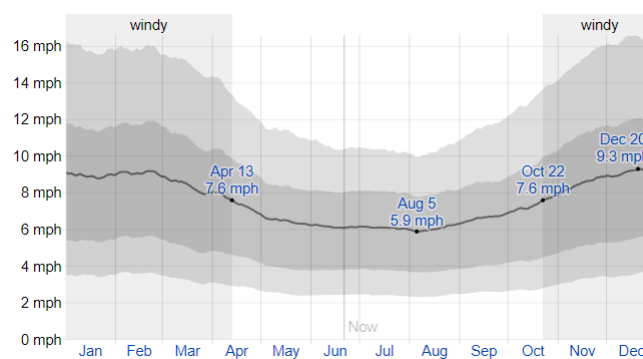


Figura 22. Promedio de las velocidades medias del viento por hora (línea gris oscura), con bandas de percentil 25 a 75 y 10 a 90.

- Energía solar

En esta sección se examina la totalidad de la energía solar de onda corta incidente diaria que llega a la superficie del suelo, teniendo en cuenta las variaciones estacionales de la duración del día, la elevación del Sol sobre el horizonte, la absorción

por las nubes y otros factores atmosféricos. La radiación de onda corta incluye la luz visible y la radiación ultravioleta.

El promedio diario de energía solar de onda corta incidente experimenta una extrema variación estacional a lo largo del año (Figura 23). El período más luminoso del año dura 3,2 meses, desde el 10 de mayo al 17 de agosto, con un promedio diario de energía de onda corta incidente por metro cuadrado superior a 6,6 kWh. El día más luminoso del año es el 5 de julio, con una media de 7,7 kWh..

El período más oscuro del año dura 3,6 meses, desde el 28 de octubre al 16 de febrero, con un promedio diario de energía de onda corta incidente por metro cuadrado inferior a 3,0 kWh. El día más oscuro del año es el 22 de diciembre, con un promedio de 1,8 kWh.

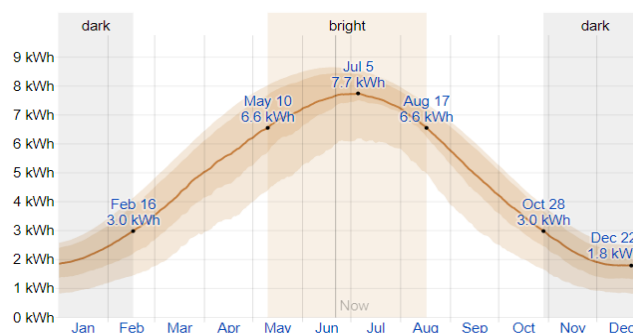


Figura 23. Promedio diario de energía solar de onda corta que llega al suelo por metro cuadrado (línea naranja), con bandas de percentil 25 a 75 y 10 a 90.

8.5. Alternativas y selección del proceso

A continuación, se exponen las distintas alternativas consideradas en la definición y el diseño del proceso estudiado. Las alternativas finalmente seleccionadas se muestran en la Tabla 16.

8.5.1. Especie de microalga

A la hora de elegir la especie de microalga utilizada para la producción de lípidos, el factor más importante a tener en cuenta es el rendimiento de la obtención de biomasa de algas (en este caso, lípidos) (Suali & Sarbatly, 2012).

Según distintas investigaciones y configuraciones encontradas en la literatura, la especie de microalgas *Chlorella* (*C. emersonii*, *C. minutissima*, *C. vulgaris* y *C. protothecoides*) es capaz de generar un contenido en lípidos superior al 63% en base seca (Illman et al., 2000).

El biodiésel producido a partir de esta especie tiene propiedades muy similares a las del petróleo fósil. Consiste principalmente en éster metílico de ácido linoleico y éster metílico de ácido oleico (Gao et al., 2010). Los ésteres metílicos de ácidos grasos

insaturados representan más del 82% del contenido total de biodiésel (H. Xu et al., 2006);(Cheng et al., 2009). Por lo tanto, el biodiesel producido a partir de *Chlorella* cumple con la norma estadounidense para biodiesel ASTM 6751 (X. Li et al., 2007).

Analizando los datos obtenidos en la literatura y teniendo en cuenta la gran variedad de estudios e investigaciones a escala piloto y de laboratorio que se han llevado a cabo con esta microalga, la especie finalmente seleccionada es *Chlorella vulgaris*. Además, esta especie presenta una gran capacidad de adaptación a diversas condiciones, por lo que constituye una buena alternativa para la producción de biocombustibles (H. Xu et al., 2006).

8.5.2. Biorreactor

La elección del tipo de biorreactor que se va a utilizar, así como el modo de funcionamiento (discontinuo o continuo) es muy importante, ya que al menos el 25% del rendimiento energético del proceso depende del modo de cultivo (Suali & Sarbatly, 2012).

La operación en batch requiere un diseño más simple comparado con la operación continua, y también la operación en batch permite una mayor producción de biomasa que la operación en continuo (Yongmanitthal & Ward, 1992). Sin embargo, en términos de productividad, el cultivo en continuo tiene un mayor rendimiento de biomasa (Carvalho & Malcata, 2005). Además, un diseño eficiente del cultivo en continuo puede reducir el coste en un 40% en comparación con un cultivo tradicional en batch (Bentley et al., 2008). Por otro lado, se ha comprobado que durante períodos de cultivo más largos se puede lograr una mayor producción de microalgas en continuo, en comparación con el cultivo en batch (Gallardo Rodríguez et al., 2010). Por esta razón, se ha seleccionado la operación en continuo.

También resulta esencial la correcta selección de la configuración del biorreactor (estanque abierto o PBR cerrado). Tras una comparación de todos los biorreactores disponibles ya mencionados anteriormente, se ha elegido un estanque circular para este proyecto, por su simplicidad estructural, su capacidad de utilizar la luz solar como fuente de energía para el crecimiento de microalgas y por ser el más adecuado para el cultivo de microalgas que se precipitan con facilidad, como es *Chlorella vulgaris* (Chang et al., 2017).

8.5.3. Técnica de recolección y deshidratación

Debido a la gran diversidad de técnicas de recolección y deshidratación disponibles, la elección debe hacerse en base a los rendimientos, los costes asociados y la energía consumida por cada método (Tabla 7 y Tabla 8). Es esencial analizar todas las alternativas posibles, considerando que el alcance de la planta diseñada incluye la obtención de lípidos a escala industrial.

Según [Crossley et al., \(2001\)](#), la flotación por aire disuelto (Dissolved Air Flotation, DAF) funciona bien en agua dulce y es capaz de hacer frente a los grandes volúmenes que se requieren en una planta de escala industrial (más de 10.000 m³/día). Además, esta técnica ya ha sido probada con éxito en la separación de microalgas de agua dulce, como *C. vulgaris*, resultando un método de recolección de bajo costo muy prometedor ([J. C. Liu et al., 1999](#)).

Por otro lado, la centrifugación es el método más rápido y fiable para la recuperación eficaz de la biomasa suspendida. ([Christenson & Sims, 2011](#)). Este método permite alcanzar altas concentraciones de biomasa y además no precisa de una etapa de deshidratación adicional posterior. La centrifugación alcanza concentraciones de biomasa de hasta el 15%-20% de materia seca y se utiliza en numerosas industrias. La capacidad de procesamiento es de hasta 120 m³/h de alimentación y el consumo de energía de las centrifugadoras modernas ha sido optimizado ([Fasaei et al., 2018](#)).

Así, la alternativa seleccionada como método de recolección es biofloculación + DAF (flotación por aire disuelto), seguido de la centrifugación, como técnica de deshidratación.

8.5.4. Técnica de ruptura celular y extracción de lípidos

Para obtener los lípidos sintetizados por las microalgas es necesario llevar a cabo la ruptura de las paredes celulares antes de la extracción. La ruptura de las células mediante la homogeneización a alta presión, ha demostrado ser el proceso de pretratamiento más eficaz para la extracción de lípidos ([Molina Grima et al., 2003](#)). Este método es uno de los más simples y antiguos utilizados tradicionalmente para extraer los aceites de la biomasa de algas. El principio de esta técnica consiste en aplicar una alta presión mecánica para aplastar las células y exprimir los lípidos de la biomasa, utilizando un homogeneizador de alta presión ([Demirbaş, 2009](#)).

Después de llevar a cabo la disrupción celular, los lípidos deben ser separados de toda la biomasa obtenida. Son muchas las técnicas disponibles para llevar a cabo esta operación. En la [Tabla 9](#) y la [Tabla 10](#) se muestran las principales características, ventajas y desventajas de las principales técnicas de extracción de lípidos.

Finalmente, la extracción con solventes (extracción con hexano) ha sido seleccionada por su simplicidad, rapidez, eficiencia y capacidad de ser eficiente a gran escala.

8.5.5. Técnica de purificación

Algunos aceites crudos de microalgas contienen fosfolípidos que deben ser eliminados en una etapa de desgomado. Los métodos de desgomado posibles son la filtración por membrana, la hidratación, el desgomado de micelas ácidas y la extracción supercrítica. En el proceso de hidratación, debido a la hidrofiliidad de los fosfolípidos, la adición de agua caliente al aceite con agitación reduce la hidrofiliidad de los fosfolípidos. Así, la

solubilidad de los estos disminuye considerablemente, de modo que puede separarse de los lípidos por sedimentación natural o por centrifugación (Verleyen et al., 2002).

Debido a su sencillez, fácil manejo y alto rendimiento de refinado, el método seleccionado para llevar a cabo el desgomado es la hidratación.

Tabla 16. Alternativas seleccionadas que definen el diseño de la planta.

	Especie de microalga	Biorreactor y modo de operación	de recolección y deshidratación	Técnica de ruptura celular y extracción de lípidos	Técnica de purificación
Alternativa seleccionada	<i>Chlorella vulgaris</i>	Operación continuo en un tanque circular	1. Biofloculación + DAF 2. Centrifugación	1. Prensa tipo expeller 2. Extracción húmeda con hexano	Desgomado con agua

8.6. Descripción del proceso

8.6.1. Process blocks diagram (PBD): descripción general

En esta sección se describe el Diagrama de Bloques del Proceso diseñado (ver APÉNDICE 4).

La principal alimentación continua del proceso consiste en: dióxido de carbono, esencial para la reacción fotosintética de las microalgas fotoautótrofas; fertilizante, que contiene los nutrientes necesarios para su crecimiento; y agua fresca, que constituye el principal componente del medio de cultivo. Además, periódicamente se introduce en el sistema un cierto volumen de inóculo de microalgas.

Los metabolitos que se extraen como producto final son los lípidos sintetizados por las microalgas. Además de este metabolito, se obtienen residuos gaseosos de la evaporación del medio de cultivo y residuos sólidos de biomasa.

Este proceso se puede dividir globalmente en 4 secciones diferenciadas por su finalidad.

SECCIÓN 1: CULTIVO DE MICROALGAS

La Sección 1 incluye el cultivo y el crecimiento de las microalgas, utilizando la alimentación antes mencionada. Esto se lleva a cabo en un fotobiorreactor. Este PBR está expuesto a una fuente de luz, que resulta esencial para que se lleve a cabo la fotosíntesis de las microalgas cultivadas, asegurando su crecimiento eficiente.

SECCIÓN 2: RECOLECCIÓN Y DESHIDRATACIÓN DE LAS MICROALGAS

En la Sección 2 se incluyen los procesos de recolección y deshidratación de las microalgas, llevados a cabo con el objetivo de separar la biomasa de algas obtenida del medio de cultivo, y eliminar la mayor cantidad de agua posible (aumentando así la densidad de algas en la corriente) para facilitar las etapas posteriores.

El agua eliminada en la etapa de deshidratación (junto con parte de la biomasa de algas que inevitablemente queda retenida) se recircula al PBR de cultivo, para su reutilización. De este modo, se reduce la cantidad de agua necesaria de alimentación, así como la demanda de nutrientes.

SECCIÓN 3: EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS MICROALGALES

Después de la etapa de deshidratación, se realiza la ruptura celular para obtener los metabolitos intercelulares. Posteriormente, los lípidos son extraídos y purificados.

Tras la separación de los lípidos, una pequeña parte de la biomasa de algas restante se elimina como residuo sólido (purga), mientras que el resto (la mayoría) es conducida a una etapa de transformación y preparación para ser reutilizada en la etapa de cultivo

SECCIÓN 4: REUTILIZACIÓN DE LA BIOMASA RESIDUAL

Para maximizar el rendimiento global del proceso, la biomasa no lipídica obtenida se somete a un proceso de digestión anaeróbica, seguido de la combustión del biogás generado. De la digestión anaeróbica se obtiene nitrógeno y fósforo inorgánicos, que se reciclan al PBR. De esta manera, se reduce la cantidad de nutrientes necesarios en la alimentación. En esta etapa también se producen agua y metano. Este metano es conducido a una etapa de combustión, donde se transforma en CO₂. Este CO₂ también es recirculado a la etapa de cultivo (PBR).

8.6.2. Suposiciones y balance de materia

La tabla de corrientes (ver [APÉNDICE 2](#)) muestra los flujos de masa diarios (toneladas/día) de las corrientes especificadas en el Diagrama de Bloques de Proceso, calculados con el objetivo de obtener **10 toneladas/día de lípidos**.

SUPOSICIONES PARA EL BALANCE DE MATERIA

Las suposiciones consideradas para el balance de materiales, de acuerdo con la literatura, se describen a continuación :

- El contenido de biomasa y la composición elemental de las microalgas se muestra en la [Tabla 17](#) y en la [Tabla 18](#) (Yuan et al., 2015):

Tabla 17. Contenido de biomasa de microalgas (en peso) en condiciones de nitrógeno bajo y normal.

	Normal N	Bajo N
Lípidos	25%	40%
Proteínas	32%	11%
Carbohidratos	35%	41%
Cenizas, otros	8%	8%

Tabla 18. Composición elemental de las microalgas (en peso) en condiciones de nitrógeno bajo y normal

	Normal N	Low N
Contenido de C (kg/t biomasa)	500	500
Contenido de N (kg/t biomasa)	52,5	17,5
Contenido de P (kg/t biomasa)	12,9	12,5

- La recolección y la deshidratación se llevan a cabo mediante una combinación de tres procesos. Sus eficiencias son: (Yuan et al., 2015):
 - Biofloculación + DAF: 90% de eficiencia
 - Centrifugación: 96% de eficiencia

Por lo tanto, la eficiencia general de esta etapa del proceso es de 86,4%

- Para separar los lípidos se realiza una extracción húmeda con hexano. La eficiencia de este proceso es del 73,6% (Yuan et al., 2015).

Considerando estas suposiciones, la producción de lípidos obtenida en cada caso es: 0,16 t lípidos/t alga seca (calculado)

- Concentración de sólidos antes de la recolección: 50 g/l
- Concentración de sólidos después de la recolección y deshidratación: 220,5 g/l

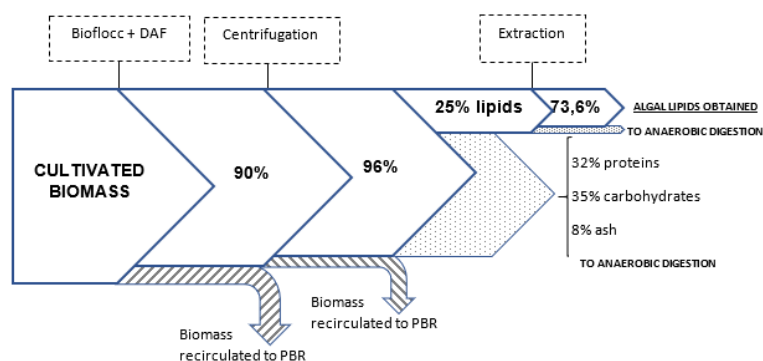


Figura 24. Representación esquemática de la biomasa del proceso, incluyendo las eficiencias de cada etapa individual (bajo un contenido normal de N).

Teniendo en cuenta todos estos factores, 1 tonelada de biomasa cultivada proporciona 0,16 toneladas de lípidos. Por lo tanto, se deben producir 62,5 toneladas de biomasa de algas en el PBR de cultivo para obtener 10 toneladas de lípidos.

BALANCE DE MATERIA: Nitrógeno y Fósforo

El suministro de nutrientes (Nitrógeno y Fósforo) a la sección de cultivo del proceso se realiza a través de tres vías: adición de fertilizantes, recirculación de los nutrientes después de las etapas de recolección y deshidratación y recirculación de la fracción líquida obtenida después de la digestión anaeróbica (Figura 25 y Figura 26). Con el objetivo de producir 10 toneladas de lípidos:

- Necesidades netas de nitrógeno basadas en la composición elemental de las microalgas: 3281,25 kg (52,5 kg N/t de biomasa seca).
- Nitrógeno reciclado del proceso (66,2% del N necesario):
 - Procedente de las etapas de recolección y deshidratación: 443,75 kg
 - Procedente de la digestión anaeróbica: 1825 kg
- Necesidades netas de fósforo basadas en la composición elemental de las microalgas: 806,25 kg (12,9 kg P/t de biomasa seca).
- Fósforo reciclado del proceso (89,7 % of the necessary P):
 - Procedente de las etapas de recolección y deshidratación: 112,5 kg
 - Procedente de la digestión anaeróbica: 612,5 kg

Además, se contemplan pequeñas pérdidas de nutrientes a lo largo del proceso (evaporación en el PBR, fracción sólida de la digestión anaeróbica). Por lo tanto, la corriente de alimentación de nutrientes debe contener: **1,15 t/d de N y 0,08 t/d de P** (corriente 2 del PBD).

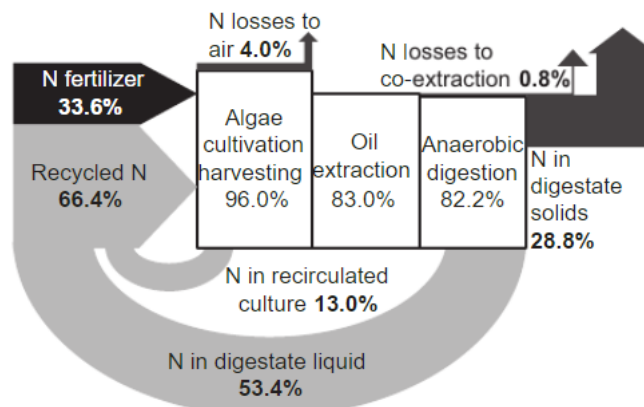


Figura 25. Representación esquemática de la recirculación y las pérdidas del nitrógeno en el proceso (de Yuan et al., 2015).

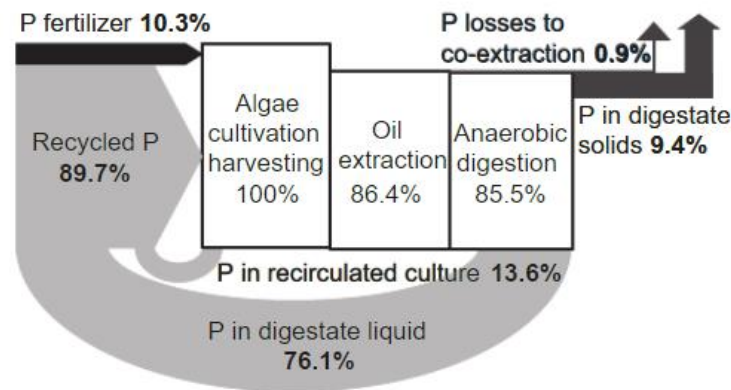


Figura 26. Representación esquemática de la recirculación y las pérdidas del fósforo en el proceso (de Yuan et al., 2015).

BALANCE DE MATERIA: Carbono (en forma de CO₂)

Los requerimientos de CO₂ para la fotosíntesis de las microalgas en la sección de cultivo se lleva a cabo a través de una corriente de suministro externo de CO₂ y mediante la combustión del biogás. Con el objetivo de producir 10 toneladas de lípidos:

- Necesidades netas de C basadas en la composición elemental de las microalgas: 31250 kg (500 kg C/t de biomasa seca).
- CO₂ recirculado de la combustión de biomasa: 19762,5 kg

Además, se contemplan pérdidas de C a lo largo del proceso (evaporación de CO₂ en el PBR, emisiones de CH₄ en la digestión anaeróbica and y pérdidas de C orgánico en el digestato sólido). Por lo tanto, la corriente de alimentación de C, en forma de CO₂ debe contener: **22,4 t/d de CO₂** (corriente 3 del PFD).

8.6.3. Process flow diagram (PFD): descripción detallada

En esta sección se describe el Diagrama de Flujo del Proceso (ver [APÉNDICE 4](#)).

SECCIÓN 1

La incorporación del CO₂ necesario en la instalación se lleva a cabo mediante un bio-scrubber BS-101. El CO₂, en combinación con el aire ambiente, se introduce en el bio-scrubber BS-101 a través del compresor, C-101. A lo largo de esta columna, el CO₂ contenido en la mezcla de gases se adsorbe al líquido (medio de cultivo del fotobiorreactor recirculado). Después de atravesar la columna, y cuando el líquido ya está saturado de CO₂, se dirige hacia el fotobiorreactor PBR-101. Los gases procedentes de la combustión del biogás (principalmente CO₂) también se incorporan a la mezcla de gases de alimentación (SECCIÓN 4).

El PBR también es alimentado periódicamente por el Basal Bold's Medium y el inóculo de microalgas.

Desde el PBR-101, el cultivo de microalgas se lleva al depósito R-202, donde se almacena parte de él (si es necesario), con el fin de garantizar la producción deseada del proceso, incluso en caso de fallo o avería del PBR-101 o del bio-scrubber BS-101.

SECCIÓN 2

La corriente de biomasa de algas (no concentrada) se dirige a la columna de flotación FC-201. Aquí es donde se llevan a cabo las etapas de la cosecha: biofloculación y flotación por aire disuelto (DAF). La columna de flotación también se alimenta con gas saturado.

Después, para separar la máxima cantidad de agua de la corriente y aumentar la densidad de la biomasa, el flujo se dirige al separador centrífugo CS-201. El agua obtenida se devuelve al PBR-101, a través de la bomba P-201, mientras que la biomasa concentrada se dirige a la SECCIÓN 3.

SECCIÓN 3

Con el fin de romper las paredes celulares, y a continuación extraer los metabolitos del interior, la biomasa concentrada de algas se introduce en el homogeneizador de alta presión HPH-301. La corriente resultante se conduce al mezclador M-301, donde se mezcla con hexano (introducido con la bomba de jeringa SP-301). Este es la primera etapa de la extracción de lípidos con hexano. Una vez que la biomasa se ha mezclado adecuadamente con el hexano incorporado, se lleva a cabo la extracción. Se obtienen dos corrientes del extractor E-301. Una es el extracto, que contiene la mayor parte del hexano y una pequeña parte de los lípidos (lípidos no extraídos). La otra corriente es el refinado, que contiene los lípidos concentrados (producto deseado). La corriente del extracto se lleva a la SECCIÓN 4.

El refinado se somete a una etapa final de purificación (proceso de desgomado con agua). El objetivo principal de esta etapa es la eliminación de los fosfátidos hidratables, con el fin de obtener unos lípidos de alta pureza. En primer lugar, la corriente se calienta a 60-70° C en el intercambiador de calor HE-301, a través del cual circula en flujo cruzado el agua fresca. Luego, se añade agua para la hidratación, y se mezcla todo en el mezclador M-302, durante unos 30 minutos. Una vez que todo se ha mezclado correctamente, se obtienen fosfatos hidratados en el reactor de hidratación HR-301. Posteriormente, los fosfátidos hidratados y el agua pueden ser separados de los lípidos purificados en el separador centrífugo CS-301.

SECCIÓN 4

Los residuos húmedos de biomasa (lípidos no extraídos en el extractor) se envían al digestor anaeróbico AD-401 para producir biogás (una combinación de metano y CO₂). Este biogás se quema en la unidad de cogeneración (caldera B-401) para suministrar electricidad y calor dentro de la instalación. Todo el carbono en forma de CH₄ y CO₂ contenido en el biogás se emite como CO₂ biogénico después de la combustión. El 50% de la energía del biogás se convierte en calor y el 36% de la energía se convierte en electricidad. El CO₂ obtenido se reincorpora en el bio-scrubber BS-101, junto con los gases de la alimentación del proceso.

8.7. Lista de equipos

						EQUIPMENT LIST		
REV.	0	1	2	3	4	JOB NO.	2020	
DATE	10/06/2020	16/06/2020				UNIT	AGLUPY	
BY	AAJ	AAJ				CLIENT		
APPR'V						LOCATION	SALERNO	
REV.	ITEM NO.	QUANTITY	SECTION (2)	DESCRIPTION		ORIGIN	DRIVER (3)	REMARKS
1	PBR-101	1	1	PHOTOBIOREACTOR FOR MICROALGAE CULTIVATION			M	
2	C-101 A/B	2	1	COMPRESSORS OF AIR AND CARBON DIOXIDE SUPPLY			M	
3	BS-101	1	1	CARBON DIOXIDE BIO-SCRUBBER				
4	P-101 A/B	2	1	PUMPS FOR AIR RECIRCULATION TO THE BIO-SCRUBBER			M	
5	R-101	1	1	MICROALGAE CULTURE RESERVOIR				
6	C-201 A/B	2	2	SATURATED GAS COMPRESSORS			M	
7	FC-201	1	2	FLOTATION COLUMN FOR ALGAE HARVESTING				
8	R-201	1	2	RECIRCULATION FROM CENTRIFUGE RESERVOIR				
9	CS-201	1	2	CENTRIFUGE SEPARATOR FOR DEWATERING STAGE			M	
10	P-201 A/B	2	2	PUMPS FOR RECIRCULATION FROM CENTRIFUGE			M	
11	HPH-301	1	3	HIGH PRESSURE HOMOGENIZER FOR LIPIDS EXTRACTION			M	
12	M-301	1	3	WET HEXANE MIXER			M	
13	E-301	1	3	LIPIDS EXTRACTOR			M	
14	P-301 A/B	2	3	PUMPS FOR LIPID FROM EXTRACTOR			M	
15	HE-301	1	3	LIPIDS HEATER				
16	M-302	1	3	MIXER FOR DEGUMMING			M	
17	R-301	1	3	FRESH WATER RESERVOIR				
18	R-302	1	3	HEXANE RESERVOIR				
19	SP-301 A/B	2	3	SYRINGE PUMPS FOR HEXANE			M	
20	HR-301	1	3	HYDRATION REACTOR FOR DEGUMMING				
21	P-302 A/B	2	3	HYDRATED PHOSPHATIDES PUMP			M	
22	P-303 A/B	2	3	FRESH WATER PUMPS			M	
23	CS-301	1	3	CENTRIFUGE SEPARATOR OF PURIFIED LIPIDS			M	
24	AD-401	1	4	ANAEROBIC DIGESTOR OF RESIDUAL BIOMASS				
25	C-401 A/B	2	4	BIOGAS FROM ANAEROBIC DIGESTION COMPRESSORS			M	
26	B-401	1	4	BOILER FOR BIOGAS COMBUSTION				
27	C-402 A/B	2	4	RECYCLED CARBON DIOXIDE COMPRESSORS			M	

LEYEND		TO BE DEFINED DURING DETAILED ENGINEERING PHASE	
1.-	DRIVER	M - ELECTRIC MOTOR	T - TURBINE O - OTHERS
2.-	SECTION	1 - MICROALGAE CULTIVATION 2 - MICROALGAE HARVESTING AND DRYING 3 - CELL DISRUPTION, LIPIDS EXTRACTION AND LIPIDS PURIFICATION	

8.8. Consideraciones de seguridad

Con el fin de estudiar y analizar la seguridad del proyecto diseñado, se ha realizado un análisis HAZOP (Hazard and Operability).

El método se ha aplicado a los puntos críticos de cada una de las secciones que constituyen la planta, para detectar posibles situaciones de riesgo y/o resolver problemas de seguridad no detectados inicialmente.

Sección 1. CULTIVO DE MICROALGAS

Palabra guía	Desviación	Causas	Consecuencias	Acciones
MAS	Hay más presión en el depósito R-101 (depósito de cultivo de microalgas)	1-Fallos en el sistema de venteo.	1- Se alcanza la presión máxima de diseño, por lo que puede haber una explosión.	1-Instalación de un interruptor de nivel alto (Level Switch High High).
NO	No hay flujo de entrada de gas en el bio-scrubber.	1-Cierre de la válvula previa. 2-Válvula anterior bloqueada. 3-La línea está rota.	1-No entra aire en el PBR, el crecimiento de microalgas se detiene porque no disponen del CO ₂ necesario para realizar la fotosíntesis.	No se requieren medidas de seguridad específicas, ya que el fallo tiene consecuencias operativas, pero es evidente que puede corregirse.
MENOS	Hay menos flujo de entrada de gas en el bio-scrubber.	Como en "NO" pero en menor grado.	Como en "NO" pero en menor grado.	Como en "NO" pero en menor grado.
PARTE DE	Hay partículas de polvo en la corriente de aire.	1-Filtro de entrada del compresor dañado.	1-Ensuciamiento del PBR y del Scrubber, con posibilidad de taponamiento.	1-Mantenimiento frecuente del filtro de los compresores.

Sección 2. RECOLECCIÓN Y DESHIDRATACIÓN DE LAS MICROALGAS

Palabra guía	Desviación	Causas	Consecuencias	Acciones
MÁS	Hay más presión en el depósito R-201.	1-Fallos en el sistema de venteo.	1-Se alcanza la presión máxima de diseño, por lo que puede haber una explosión.	1-Instalación de un interruptor de nivel alto (Level Switch High High).

Sección 3. RUPTURA CELULAR Y EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS

Palabra guía	Desviación	Causas	Consecuencias	Acciones
MÁS	Hay más presión en el depósito R-301.	1-Fallos en el sistema de venteo.	1-Se alcanza la presión máxima de diseño, por lo que puede haber una explosión.	1-Instalación de un interruptor de nivel alto (Level Switch High High).
MENOS	Hay menos flujo en la corriente de salida del homogeneizador.	1- Taponamiento parcial del homogeneizador con biomasa residual.	1-Explosión del homogeneizador.	1-Instalación de una alarma de alta temperatura (High Temperature Alarm) que reduzca la entrada de biomasa en el homogeneizador. 2-Limpieza periódica del homogeneizador.
NO	No hay flujo en la corriente de salida del homogeneizador	1-Total plugging of the homogenizer with residual biomass.	1-Explosión del homogeneizador.	1-Instalación de una alarma de alta temperatura (High High Temperature Alarm) que reduzca la entrada de biomasa en el homogeneizador. 2-Limpieza periódica del homogeneizador.
MÁS	Más presión en el homogeneizador	1-Taponamiento total o parcial del homogeneizador con biomasa residual.	1-Explosión del homogeneizador.	1- Instalación de una alarma de flujo en la corriente de salida del homogeneizador. 2-Limpieza periódica del homogeneizador.

Sección 4. REUTILIZACIÓN DE LA BIOMASA RESIDUAL

Palabra guía	Desviación	Causas	Consecuencias	Acciones
MÁS	Más temperatura de la caldera.	1-Aumento de la presión de la caldera.	1- La caldera podría explotar. 2-Los tubos pueden explotar debido a la alta presión. 3-Desencadenamiento de un incendio.	1-Installation of a High Temperature Alarm which reduces the inflow of biogas into the boiler. 2-Installation of a High High Temperature Alarm which stops the inflow of biogas into the boiler.
NO	No hay flujo en la tubería de gas de combustión.	1-La combustión no está siendo adecuada. 2-La línea está rota. 3-Fallo de sellado.	1-Eficiencia del proceso global disminuye (consecuencia de la operación). 2-Posibles fugas liberan gases sucios a la atmósfera. (principalmente CO ₂)	1-Installation of a flow Alarm in this pipe. 2-Installation of a Flow Switch Low in this pipe to stop the combustion.
MENOS	Hay menos flujo de metano en la línea procedente del digestor anaeróbico.	1-Fallo en los compresores. 2-La línea está rota. 3-Hay fugas en las tuberías que causan descargas de metano. 4-La digestión anaeróbica no se está llevando a cabo correctamente.	1-Posibilidad de desencadenamiento de un incendio.	1-Instalación de un interruptor de flujo bajo (Flow Switch Low) que actúa sobre los compresores de metano para detenerlos.

OTRAS DESVIACIONES GENERALES

Palabra guía	Desviación	Causas	Consecuencias	Acciones
NO	No hay corriente eléctrica.	1-Fallos en la instalación eléctrica.	1-Parada de los motores y actuación del sistema de control automático.	1-Instalación de válvulas manuales para detener su funcionamiento temporalmente.
MENOS	Hay menos flujo de lo esperado en cualquier tubería.	1-La válvula anterior falla al abrirse. 2-Fallos en la bomba de impulsión anterior.	1-La demanda de lípidos no puede ser suplida (consecuencia de la operación).	1-Instalación de un sistema de seguridad (una válvula manual) en cada válvula de control. 2-Todas las bombas están duplicadas. Durante el funcionamiento normal, sólo una bomba funciona y la otra se detiene. La segunda funciona en caso de fallo de la primera.

9. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La producción de biocombustibles a partir de microalgas es una fuente renovable sostenible en comparación con los combustibles fósiles. Aunque hay muchos estudios e investigaciones destinados a obtener biocombustible a partir de microalgas, en la actualidad, ni los métodos tradicionales ni los novedosos son suficientes para garantizar su viabilidad económica y su escalabilidad a nivel industrial.

Además, como los datos sobre el rendimiento de los procesos todavía sólo existen a escala de laboratorio, los resultados varían en una gama considerablemente amplia. Es necesario seguir investigando el proceso a fin de optimizar todos los parámetros que intervienen en el crecimiento y el cultivo de las algas, así como la selección de las técnicas disponibles para la cosecha, la deshidratación, la extracción de lípidos y la transformación en biocombustibles, de modo que este combustible microalgal sea competitivo y pueda sustituir a los actuales recursos energéticos fósiles.

Sin embargo, como se ha demostrado en el diseño teórico de la planta de producción de lípidos, la utilización del residuo seco de biomasa reduce considerablemente el suministro de nutrientes necesarios y, por consiguiente, el costo del proceso, haciéndolo más rentable económicamente. Se ha calculado que, en el caso del Nitrógeno, es posible recircular del proceso el 66,2% de la cantidad total necesaria; en el caso del Fósforo, se puede recircular del proceso el 89,7% de la cantidad total necesaria; y en el caso del Carbono, debido a la implementación de una digestión anaeróbica y una posterior combustión del biogás, es posible reutilizar el 63,24% del total de Carbono necesario. Este reciclado de los nutrientes, además de reducir la cantidad total de alimentos necesarios, reduce considerablemente los residuos emitidos en el proceso, haciéndolo más ecológico y sostenible.

REFERENCIAS

- 't Lam, G. P., Vermeuë, M. H., Olivieri, G., van den Broek, L. A. M., Barbosa, M. J., Eppink, M. H. M., Wijffels, R. H., & Kleinegris, D. M. M. (2014). Cationic polymers for successful flocculation of marine microalgae. *Bioresource Technology*, *169*, 804–807. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.070>
- Abomohra, A. E. F., Jin, W., & El-Sheekh, M. (2016). Enhancement of lipid extraction for improved biodiesel recovery from the biodiesel promising microalga *Scenedesmus obliquus*. *Energy Conversion and Management*, *108*, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2015.11.007>
- Ación Fernández, F. G., Fernández Sevilla, J. M., & Molina Grima, E. (2013). Photobioreactors for the production of microalgae. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, *12*(2), 131–151. <https://doi.org/10.1007/s11157-012-9307-6>
- Adesanya, V. O., Cadena, E., Scott, S. A., & Smith, A. G. (2014). Life cycle assessment on microalgal biodiesel production using a hybrid cultivation system. *Bioresource Technology*, *163*, 343–355. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.051>
- Agarwal, A., Rana, M., & Park, J. H. (2018). Advancement in technologies for the depolymerization of lignin. In *Fuel Processing Technology* (Vol. 181, pp. 115–132). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2018.09.017>
- Al-Ameri, M., & Al-Zuhair, S. (2019). Using switchable solvents for enhanced, simultaneous microalgae oil extraction-reaction for biodiesel production. *Biochemical Engineering Journal*, *141*, 217–224. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.10.017>
- Alishah Aratboni, H., Rafiei, N., Garcia-Granados, R., Alemzadeh, A., & Morones-Ramírez, J. R. (2019). Biomass and lipid induction strategies in microalgae for biofuel production and other applications. In *Microbial Cell Factories* (Vol. 18, Issue 1, pp. 1–17). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1228-4>
- Alonso Castro, E. (2014). *UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS DE MINAS Y ENERGÍA Titulación: INGENIERO SUPERIOR DE MINAS Especialidad: ENERGÍA Y COMBUSTIBLES PROYECTO FIN DE CARRERA DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y COMBUSTIBLES BIODIESEL DE.*
- Anto, S., Mukherjee, S. S., Muthappa, R., Mathimani, T., Deviram, G., Kumar, S. S., Verma, T. N., & Pugazhendhi, A. (2020). Algae as green energy reserve: Technological outlook on biofuel production. *Chemosphere*, *242*, 125079. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125079>
- Arguelles, E. D., Laurena, A. C., Monsalud, R. G., & Martinez-Goss, M. R. (2018). Fatty acid profile and fuel-derived physico-chemical properties of biodiesel obtained from an indigenous green microalga, *Desmodesmus* sp. (I-AU1), as potential source of renewable lipid and high quality biodiesel. *Journal of Applied Phycology*, *30*(1), 411–419. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1264-6>
- Ashok, V., Shriwastav, A., Bose, P., & Gupta, S. K. (2019). Phycoremediation of wastewater using algal-bacterial photobioreactor: Effect of nutrient load and light intensity. *Bioresource Technology Reports*, *7*(March), 100205. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100205>
- Barros, A. I., Gonçalves, A. L., Simões, M., & Pires, J. C. M. (2015). Harvesting techniques applied to microalgae: A review. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 41, pp. 1489–1500). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.09.037>
- Batista, G., Surek, G. A. S., Benincá, C., Corazza, M. L., & Zanoelo, E. F. (2016). Cyclic pressurization assisted extraction of lipids from microalgae for biodiesel production: Non-equilibrium and equilibrium data. *Fuel*, *163*, 133–138. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.09.051>
- Beach, E. S., Eckelman, M. J., Cui, Z., Brentner, L., & Zimmerman, J. B. (2012). Preferential technological and life cycle environmental performance of chitosan flocculation for harvesting of the green algae *Neochloris oleoabundans*. *Bioresource Technology*, *121*, 445–449. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.012>
- Bentley, C. D., Carroll, P. M., Watanabe, W. O., & Riedel, A. M. (2008). Intensive Rotifer Production in a Pilot-scale Continuous Culture Recirculating System Using Nonviable Microalgae and an Ammonia Neutralizer. *Journal of the World Aquaculture Society*, *39*(5), 625–635. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2008.00201.x>
- Bilad, M. R., Mezohegyi, G., Declerck, P., & Vankelecom, I. F. J. (2012). Novel magnetically induced membrane vibration (MMV) for fouling control in membrane bioreactors. *Water Research*, *46*(1), 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.10.026>
- Borowitzka, M. A. (2013). Energy from microalgae: A short history. In *Algae for Biofuels and Energy* (pp. 1–15). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5479-9_1
- Borowitzka, M. A. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*, *70*(1–3), 313–321. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(99\)00083-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(99)00083-8)
- Borowitzka, M. A. (1997). Microalgae for aquaculture: Opportunities and constraints. *Journal of Applied Phycology*, *9*(5), 393–401. <https://doi.org/10.1023/A:1007921728300>

FOTOBIOREACTORES, TÉCNICAS Y PARÁMETROS IMPLICADOS EN LA PRODUCCIÓN DE BIOCMBUSTIBLES DE ORIGEN MICROALGAL. Andrea Arribas Jimeno.

- Borowitzka, M. A., & Moheimani, N. R. (2013). Algae for biofuels and energy. In *Algae for Biofuels and Energy*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-5479-9>
- Boyd, A. R., Champagne, P., McGinn, P. J., MacDougall, K. M., Melanson, J. E., & Jessop, P. G. (2012). Switchable hydrophilicity solvents for lipid extraction from microalgae for biofuel production. *Bioresource Technology*, *118*, 628–632. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.084>
- Branyikova, I., Prochazkova, G., Potocar, T., Jezkova, Z., & Branyik, T. (2018). Harvesting of microalgae by flocculation. *Fermentation*, *4*(4), 1–12. <https://doi.org/10.3390/fermentation4040093>
- Brennan, L., & Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 14, Issue 2, pp. 557–577). Pergamon. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.009>
- Bux, F., & Ramesh, D. (2013). Lipid Identification and Extraction Techniques. In *Biotechnological Applications of Microalgae* (pp. 89–98). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b14920-8>
- Carlozzi, P. (2008). Closed Photobioreactor Assessments to Grow, Intensively, Light Dependent Microorganisms: A Twenty-Year Italian Outdoor Investigation. *The Open Biotechnology Journal*, *2*(1), 63–72. <https://doi.org/10.2174/1874070700802010063>
- Carvalho, A. P., & Malcata, F. X. (2005). Optimization of ω -3 fatty acid production by microalgae: Crossover effects of CO₂ and light intensity under batch and continuous cultivation modes. *Marine Biotechnology*, *7*(4), 381–388. <https://doi.org/10.1007/s10126-004-4047-4>
- Carvalho, A. P., Meireles, L. A., & Malcata, F. X. (2006). Microalgal Reactors: A Review of Enclosed System Designs and Performances. *Wiley Online Library*, *22*(6), 1490–1506. <https://doi.org/10.1021/bp060065r>
- Cassey TL, Y. A., & Shazwan AS, H. M. (2014). Current Review on the Coagulation/Flocculation of Lignin Containing Wastewater. *International Journal of Waste Resources*, *04*(03). <https://doi.org/10.4172/2252-5211.1000153>
- Castillo, O. S., Torres-Badajoz, S. G., Núñez-Colín, C. A., Peña-Caballero, V., Herrera Méndez, C. H., & Rodríguez-Núñez, J. R. (2017). Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas Biodiesel production from microalgae: progress and biotechnological prospects. *Hidrobiológica*, *27*(3), 16. [https://doi.org/27\(3\):337-352](https://doi.org/27(3):337-352)
- Chang, J. S., Show, P. L., Ling, T. C., Chen, C. Y., Ho, S. H., Tan, C. H., Nagarajan, D., & Phong, W. N. (2017). Photobioreactors. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Bioprocesses, Bioreactors and Controls* (Issue May 2018). <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63663-8.00011-2>
- Chaumont, D. (1993). Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for outdoor mass culture. *Journal of Applied Phycology*, *5*(6), 593–604. <https://doi.org/10.1007/BF02184638>
- Chen, C. L., Chang, J. S., & Lee, D. J. (2015). Dewatering and Drying Methods for Microalgae. *Drying Technology*, *33*(4), 443–454. <https://doi.org/10.1080/07373937.2014.997881>
- Cheng, Y., Zhou, W., Gao, C., Lan, K., Gao, Y., & Wu, Q. (2009). Biodiesel production from Jerusalem artichoke (*Helianthus Tuberosus* L.) tuber by heterotrophic microalgae *Chlorella protothecoides*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, *84*(5), 777–781. <https://doi.org/10.1002/jctb.2111>
- Chevalier, P., & de la Nouë, J. (1985). Efficiency of immobilized hyperconcentrated algae for ammonium and orthophosphate removal from wastewaters. *Biotechnology Letters*, *7*(6), 395–400. <https://doi.org/10.1007/BF01166210>
- Chew, K. W., Yap, J. Y., Show, P. L., Suan, N. H., Juan, J. C., Ling, T. C., Lee, D. J., & Chang, J. S. (2017). Microalgae biorefinery: High value products perspectives. *Bioresource Technology*, *229*, 53–62. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.006>
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. In *Biotechnology Advances* (Vol. 25, Issue 3, pp. 294–306). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>
- Chisti, Y. (2008). Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends in Biotechnology*, *26*(3), 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.12.002>
- Chiu, S. Y., Kao, C. Y., Chen, C. H., Kuan, T. C., Ong, S. C., & Lin, C. S. (2008). Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor. *Bioresource Technology*, *99*(9), 3389–3396. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.013>
- Chiu, S. Y., Kao, C. Y., Tsai, M. T., Ong, S. C., Chen, C. H., & Lin, C. S. (2009). Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration. *Bioresource Technology*, *100*(2), 833–838. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.061>
- Choi, H. J. (2015). Effect of eggshells for the harvesting of microalgae species. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *29*(4), 666–672. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1031177>

FOTOBIOREACTORES, TÉCNICAS Y PARÁMETROS IMPLICADOS EN LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES DE ORIGEN MICROALGAL. Andrea Arribas Jimeno.

- Choi, S. A., Oh, Y. K., Jeong, M. J., Kim, S. W., Lee, J. S., & Park, J. Y. (2014). Effects of ionic liquid mixtures on lipid extraction from *Chlorella vulgaris*. *Renewable Energy*, *65*, 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2013.08.015>
- Christenson, L., & Sims, R. (2011). Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. In *Biotechnology Advances* (Vol. 29, Issue 6, pp. 686–702). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.015>
- Christopher, L. P., Hemanathan Kumar, & Zambare, V. P. (2014). Enzymatic biodiesel: Challenges and opportunities. In *Applied Energy* (Vol. 119, pp. 497–520). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.01.017>
- de Jesus, S. S., Ferreira, G. F., Moreira, L. S., Wolf Maciel, M. R., & Maciel Filho, R. (2019). Comparison of several methods for effective lipid extraction from wet microalgae using green solvents. *Renewable Energy*, *143*, 130–141. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.04.168>
- Deconinck, N., Muylaert, K., Ivens, W., & Vandamme, D. (2018). Innovative harvesting processes for microalgae biomass production: A perspective from patent literature. In *Algal Research* (Vol. 31, pp. 469–477). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.01.016>
- Demirbaş, A. (2009). Production of biodiesel from algae oils. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects*, *31*(2), 163–168. <https://doi.org/10.1080/15567030701521775>
- Dunahay, T. G., Jarvis, E. E., Dais, S. S., & Roessler, P. G. (1996). Manipulation of microalgal lipid production using genetic engineering. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology*, *57–58*(1), 223–231. <https://doi.org/10.1007/BF02941703>
- Ehimen, E. A., Sun, Z., & Carrington, G. C. (2012). Use of Ultrasound and Co-Solvents to Improve the In-Situ Transesterification of Microalgae Biomass. *Procedia Environmental Sciences*, *15*, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2012.05.009>
- El-Baz, F. K., Abdo, S. M., Abed, K., & Matter, I. A. (2016). Performance and Exhaust Emissions of a Diesel Engine Burning Algal Biodiesel Blends. In *International Journal of Mechanical & Mechatronics Engineering IJMME-IJENS*.
- Ellison, C. R., Overa, S., & Boldor, D. (2019). Central composite design parameterization of microalgae/cyanobacteria co-culture pretreatment for enhanced lipid extraction using an external clamp-on ultrasonic transducer. *Ultrasonics Sonochemistry*, *51*, 496–503. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.05.006>
- Fan, L. H., Zhang, Y. T., Zhang, L., & Chen, H. L. (2008). Evaluation of a membrane-sparged helical tubular photobioreactor for carbon dioxide biofixation by *Chlorella vulgaris*. *Journal of Membrane Science*, *325*(1), 336–345. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2008.07.044>
- Farooq, W., Lee, Y. C., Han, J. I., Darpito, C. H., Choi, M., & Yang, J. W. (2013). Efficient microalgae harvesting by organo-building blocks of nanoclays. *Green Chemistry*, *15*(3), 749–755. <https://doi.org/10.1039/c3gc36767c>
- Fasaai, F., Bitter, J. H., Slegers, P. M., & van Boxtel, A. J. B. (2018). Techno-economic evaluation of microalgae harvesting and dewatering systems. *Algal Research*, *31*, 347–362. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.038>
- Flisar, K., Meglic, S. H., Morelj, J., Golob, J., & Miklavcic, D. (2014). Testing a prototype pulse generator for a continuous flow system and its use for *E. coli* inactivation and microalgae lipid extraction. *Bioelectrochemistry*, *100*, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2014.03.008>
- Fukami, K., Nishimura, S., Ogusa, M., Asada, M., & Nishijima, T. (1997). Continuous culture with deep seawater of a benthic food diatom *Nitzschia* sp. *Hydrobiologia*, *358*(1–3), 245–249. https://doi.org/10.1007/978-94-017-2097-7_38
- Fukuda, H., Kondo, A., & Noda, H. (2001). Biodiesel fuel production by transesterification of oils. In *Journal of Bioscience and Bioengineering* (Vol. 92, Issue 5, pp. 405–416). Society of Fermentation and Bioengineering. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(01\)80288-7](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(01)80288-7)
- Gallardo Rodríguez, J. J., Sánchez Mirón, A., García Camacho, F., Cerón García, M. C., Belarbi, E. H., & Molina Grima, E. (2010). Culture of dinoflagellates in a fed-batch and continuous stirred-tank photobioreactors: Growth, oxidative stress and toxin production. *Process Biochemistry*, *45*(5), 660–666. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.12.018>
- Gao, C., Zhai, Y., Ding, Y., & Wu, Q. (2010). Application of sweet sorghum for biodiesel production by heterotrophic microalga *Chlorella protothecoides*. *Applied Energy*, *87*(3), 756–761. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.09.006>
- Garg, S., Wang, L., & Schenk, P. M. (2014). Effective harvesting of low surface-hydrophobicity microalgae by froth flotation. *Bioresource Technology*, *159*, 437–441. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.030>
- Gerardo, M. L., Van Den Hende, S., Vervaeren, H., Coward, T., & Skill, S. C. (2015). Harvesting of microalgae within a biorefinery approach: A review of the developments and case studies from pilot-plants. In *Algal Research* (Vol. 11, pp. 248–262). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.06.019>
- Gorgich, M., Mata, T. M., Martins, A. A., Branco-Vieira, M., & Caetano, N. S. (2020). Comparison of different lipid extraction procedures applied to three microalgal species. *Energy Reports*, *6*, 477–482. <https://doi.org/10.1016/j.egyr.2019.09.011>

- Greque De Morais, M., & Vieira Costa, J. A. (n.d.). *Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide*. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2006.12.011>
- Gutzeit, G., Lorch, D., Weber, A., Engels, M., & Neis, U. (2005). Bioflocculent algal-bacterial biomass improves low-cost wastewater treatment. *Water Science and Technology*, 52(12), 9–18. <https://doi.org/10.2166/wst.2005.0415>
- Hanagata, N., Takeuchi, T., Fukuju, Y., Barnes, D. J., & Karube, I. (Mitsui Z. L. R. I. of I. T. for the E. 1 Y. I. C. 290 (Japan)). (1992). Tolerance of microalgae to high CO₂ and high temperature. *Phytochemistry (United Kingdom)*. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=GB9506175>
- Hidalgo, P., Ciudad, G., & Navia, R. (2016). Evaluation of different solvent mixtures in esterifiable lipids extraction from microalgae *Botryococcus braunii* for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 201, 360–364. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.031>
- Hoshida, H., Ohira, T., Minematsu, A., Akada, R., & Nishizawa, Y. (2005). Accumulation of eicosapentaenoic acid in *Nannochloropsis* sp. in response to elevated CO₂ concentrations. *Journal of Applied Phycology*, 17(1), 29–34. <https://doi.org/10.1007/s10811-005-5512-9>
- Hu, Q., Guterman, H., & Richmond, A. (1996). A flat inclined modular photobioreactor for outdoor mass cultivation of photoautotrophs. *Biotechnology and Bioengineering*, 51(1), 51–60. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0290\(19960705\)51:1<51::aid-bit6>3.0.co;2-%23](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0290(19960705)51:1<51::aid-bit6>3.0.co;2-%23)
- Huang, J., Hankamer, B., & Yarnold, J. (2019). Design scenarios of outdoor arrayed cylindrical photobioreactors for microalgae cultivation considering solar radiation and temperature. *Algal Research*, 41, 101515. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101515>
- Hulst, C. van der. (2013). *Microalgae Cultivation Systems Analysis of microalgae cultivation systems and LCA for biodiesel production*.
- Illman, A. M., Scragg, A. H., & Shales, S. W. (2000). Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. *Enzyme and Microbial Technology*, 27(8), 631–635. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(00\)00266-0](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(00)00266-0)
- Iqbal, M., Grey, D., Stepan-Sarkissian, F., & Fowler, M. W. (1993). A flat-sided photobioreactor for culturing microalgae. *Aquacultural Engineering*, 12(3), 183–190. [https://doi.org/10.1016/0144-8609\(93\)90010-9](https://doi.org/10.1016/0144-8609(93)90010-9)
- James, C. M., & Al-Khars, A. M. (1990). An intensive continuous culture system using tubular photobioreactors for producing microalgae. *Aquaculture*, 87(3–4), 381–393. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(90\)90075-X](https://doi.org/10.1016/0044-8486(90)90075-X)
- Jeevan Kumar, S. P., Vijay Kumar, G., Dash, A., Scholz, P., & Banerjee, R. (2017). Sustainable green solvents and techniques for lipid extraction from microalgae: A review. In *Algal Research* (Vol. 21, pp. 138–147). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.014>
- Jegannathan, K. R., Abang, S., Poncelet, D., Chan, E. S., & Ravindra, P. (2008). Production of biodiesel using immobilized lipase - A critical review. In *Critical Reviews in Biotechnology* (Vol. 28, Issue 4, pp. 253–264). <https://doi.org/10.1080/07388550802428392>
- Kapooore, R., Butler, T., Pandhal, J., & Vaidyanathan, S. (2018). Microwave-Assisted Extraction for Microalgae: From Biofuels to Biorefinery. *Biology*, 7(1), 18. <https://doi.org/10.3390/biology7010018>
- Kawashima, A., Matsubara, K., & Honda, K. (2009). Acceleration of catalytic activity of calcium oxide for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 100(2), 696–700. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.049>
- Khoo, K. S., Chew, K. W., Yew, G. Y., Leong, W. H., Chai, Y. H., Show, P. L., & Chen, W. H. (2020). Recent advances in downstream processing of microalgae lipid recovery for biofuel production. *Bioresource Technology*, 304(December 2019), 122996. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122996>
- Kim, J., Ryu, B.-G., Kim, K., Kim, B.-K., Han, J.-I., & Yang, J.-W. (2012). Continuous microalgae recovery using electrolysis: Effect of different electrode pairs and timing of polarity exchange. *Bioresource Technology*, 123, 164–170. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.08.010>
- Kim, J., Yoo, G., Lee, H., Lim, J., Kim, K., Kim, C. W., Park, M. S., & Yang, J. W. (2013). Methods of downstream processing for the production of biodiesel from microalgae. In *Biotechnology Advances* (Vol. 31, Issue 6, pp. 862–876). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.04.006>
- Kim, Y. H., Choi, Y. K., Park, J., Lee, S., Yang, Y. H., Kim, H. J., Park, T. J., Hwan Kim, Y., & Lee, S. H. (2012). Ionic liquid-mediated extraction of lipids from algal biomass. *Bioresource Technology*, 109, 312–315. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.064>
- Krzemińska, I., Pawlik-Skowrońska, B., Trzcńska, M., & Tys, J. (2014). Influence of photoperiods on the growth rate and biomass productivity of green microalgae. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(4), 735–741. <https://doi.org/10.1007/s00449-013-1044-x>

FOTOBIOREACTORES, TÉCNICAS Y PARÁMETROS IMPLICADOS EN LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES DE ORIGEN MICROALGAL. Andrea Arribas Jimeno.

- Kumar, K., Dasgupta, C. N., Nayak, B., Lindblad, P., & Das, D. (2011). Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. In *Bioresource Technology* (Vol. 102, Issue 8, pp. 4945–4953). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.054>
- Kumar, R. R., Rao, P. H., & Arumugam, M. (2015). Lipid extraction methods from microalgae: A comprehensive review. In *Frontiers in Energy Research* (Vol. 3, Issue JAN, p. 61). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2014.00061>
- Kunjapur, A. M., & Eldridge, R. B. (2010). Photobioreactor design for commercial biofuel production from microalgae. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 49(8), 3516–3526. <https://doi.org/10.1021/ie901459u>
- Ladero, M., & Calvo, L. (2013). Obtención de biodiesel por vía enzimática a partir de un aceite modelo de microalgas en medios no convencionales. *Seguridad y Medioambiente de Fundación Mapfre*, 150, 46–59.
- Laing, I., & Jones, E. (1988). A turbidostat vessel for the continuous culture of marine microalgae. *Aquacultural Engineering*, 7(2), 89–96. [https://doi.org/10.1016/0144-8609\(88\)90007-6](https://doi.org/10.1016/0144-8609(88)90007-6)
- Lam, M. K., & Lee, K. T. (2012). Microalgae biofuels: A critical review of issues, problems and the way forward. In *Biotechnology Advances* (Vol. 30, Issue 3, pp. 673–690). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.11.008>
- Lau, P. S., Tam, N. F. Y., & Wong, Y. S. (1995). Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater. *Environmental Pollution*, 89(1), 59–66. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(94\)00044-E](https://doi.org/10.1016/0269-7491(94)00044-E)
- Le-Clech, P., Chen, V., & Fane, T. A. G. (2006). Fouling in membrane bioreactors used in wastewater treatment. In *Journal of Membrane Science* (Vol. 284, Issues 1–2, pp. 17–53). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.08.019>
- Lee, S. J., Yoon, B. D., & Oh, H. M. (1998a). Rapid method for the determination of lipid from the green alga *Botryococcus braunii*. *Biotechnology Techniques*, 12(7), 553–556. <https://doi.org/10.1023/A:1008811716448>
- Lee, S. J., Yoon, B. D., & Oh, H. M. (1998b). Rapid method for the determination of lipid from the green alga *Botryococcus braunii*. *Biotechnology Techniques*, 12(7), 553–556. <https://doi.org/10.1023/A:1008811716448>
- Lee, Y. K., Ding, S. Y., Low, C. S., Chang, Y. C., Forday, W. L., & Chew, P. C. (1995). Design and performance of an α -type tubular photobioreactor for mass cultivation of microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 7(1), 47–51. <https://doi.org/10.1007/BF00003549>
- Lehr, F., & Posten, C. (2009). Closed photo-bioreactors as tools for biofuel production. In *Current Opinion in Biotechnology* (Vol. 20, Issue 3, pp. 280–285). <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2009.04.004>
- Leung, D. Y. C., Wu, X., & Leung, M. K. H. (2010). A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. In *Applied Energy* (Vol. 87, Issue 4, pp. 1083–1095). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.10.006>
- Li, P., Kanda, H., & Makino, H. (2014). Simultaneous production of bio-solid fuel and bio-crude from vegetal biomass using liquefied dimethyl ether. *Fuel*, 116, 370–376. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.08.020>
- Li, P., Sakuragi, K., & Makino, H. (2019). Extraction techniques in sustainable biofuel production: A concise review. *Fuel Processing Technology*, 193(May), 295–303. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2019.05.009>
- Li, X., Xu, H., & Wu, Q. (2007). Large-scale biodiesel production from microalga *Chlorella protothecoides* through heterotrophic cultivation in bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 98(4), 764–771. <https://doi.org/10.1002/bit.21489>
- Liu, J. C., Chen, Y. M., & Ju, Y. H. (1999). Separation of algal cells from water by column flotation. *Separation Science and Technology*, 34(11), 2259–2272. <https://doi.org/10.1081/SS-100100771>
- Liu, J., Zhu, Y., Tao, Y., Zhang, Y., Li, A., Li, T., Sang, M., & Zhang, C. (2013a). Liu, J., Zhu, Y., Tao, Y., Zhang, Y., Li, A., Li, T., Sang, M., & Zhang, C. (2013). Freshwater microalgae harvested via flocculation induced by pH decrease. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1), 98. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-98>
- Liu, J., Zhu, Y., Tao, Y., Zhang, Y., Li, A., Li, T., Sang, M., & Zhang, C. (2013b). Freshwater microalgae harvested via flocculation induced by pH decrease. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1), 98. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-98>
- Lorenzen, J., Igl, N., Tippelt, M., Stege, A., Qoura, F., Sohling, U., & Brück, T. (2017). Extraction of microalgae derived lipids with supercritical carbon dioxide in an industrial relevant pilot plant. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 40(6), 911–918. <https://doi.org/10.1007/s00449-017-1755-5>
- Macías-Sánchez, M. D., Robles-Medina, A., Hita-Peña, E., Jiménez-Callejón, M. J., Estéban-Cerdán, L., González-Moreno, P. A., & Molina-Grima, E. (2015). Biodiesel production from wet microalgal biomass by direct transesterification. *Fuel*, 150, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.01.106>
- Maeda, K., Owada, M., Kimura, N., Omata, K., & Karube, I. (1995). CO₂ fixation from the flue gas on coal-fired thermal power plant by microalgae. *Energy Conversion and Management*, 36(6–9), 717–720. [https://doi.org/10.1016/0196-8904\(95\)00105-M](https://doi.org/10.1016/0196-8904(95)00105-M)

- Maizatul, A. Y., Radin Mohamed, R. M. S., Al-Gheethi, A. A., & Hashim, M. K. A. (2017). An overview of the utilisation of microalgae biomass derived from nutrient recycling of wet market wastewater and slaughterhouse wastewater. In *International Aquatic Research* (Vol. 9, Issue 3, pp. 177–193). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s40071-017-0168-z>
- Marrone, B. L., Lacey, R. E., Anderson, D. B., Bonner, J., Coons, J., Dale, T., Downes, C. M., Fernando, S., Fuller, C., Goodall, B., Holladay, J. E., Kadam, K., Kalb, D., Liu, W., Mott, J. B., Nikolov, Z., Ogden, K. L., Sayre, R. T., Trewyn, B. G., & Olivares, J. A. (2018). Review of the harvesting and extraction program within the National Alliance for Advanced Biofuels and Bioproducts. *Algal Research*, 33, 470–485. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.07.015>
- Martinez-Guerra, E., & Gude, V. G. (2016). Energy aspects of microalgal biodiesel production. *AIMS Energy*, 4(2), 347–362. <https://doi.org/10.3934/energy.2016.2.347>
- Matter, I. A., Hoang Bui, V. K., Jung, M., Seo, J. Y., Kim, Y. E., Lee, Y. C., & Oh, Y. K. (2019). Flocculation harvesting techniques for microalgae: A review. *Applied Sciences (Switzerland)*, 9(15). <https://doi.org/10.3390/app9153069>
- Meng, X., Xu, G., Zhou, Q. L., Wu, J. P., & Yang, L. R. (2014). Highly efficient solvent-free synthesis of 1,3-diacylglycerols by lipase immobilised on nano-sized magnetite particles. *Food Chemistry*, 143, 319–324. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.132>
- Minguillán, A. C. G. (2011). *Producción de biodiesel mediante tecnologías alternativas a la transesterificación básica homogénea*.
- Mirón, A. S., Gómez, A. C., Camacho, F. G., Grima, E. M., & Chisti, Y. (1999). Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae. *Progress in Industrial Microbiology*, 35(C), 249–270. [https://doi.org/10.1016/S0079-6352\(99\)80119-2](https://doi.org/10.1016/S0079-6352(99)80119-2)
- Misra, R., Guldhe, A., Singh, P., Rawat, I., & Bux, F. (2014). Electrochemical harvesting process for microalgae by using nonsacrificial carbon electrode: A sustainable approach for biodiesel production. *Chemical Engineering Journal*, 255, 327–333. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.06.010>
- Miyamoto, K., Wable, O., & Benemann, J. R. (1988). Vertical tubular reactor for microalgae cultivation. *Biotechnology Letters*, 10(10), 703–708. <https://doi.org/10.1007/BF01025286>
- Molina Grima, E., Belarbi, E. H., Ación Fernández, F. G., Robles Medina, A., & Chisti, Y. (2003). Recovery of microalgal biomass and metabolites: Process options and economics. *Biotechnology Advances*, 20(7–8), 491–515. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(02\)00050-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(02)00050-2)
- Molina Grima Sfinchez P, E. J., Garcla Camacho, F., Garcla Sfinchez, J., Aci, F., & Alonso, pez. (1994). Outdoor culture of Isochrysis galbana ALII-4 in a closed tubular photobioreactor. In *Journal of Biotechnology* (Vol. 37).
- Morita, M., Watanabe, Y., & Saiki, H. (2000). Investigation of photobioreactor design for enhancing the photosynthetic productivity of microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, 69(6), 693–698. [https://doi.org/10.1002/1097-0290\(20000920\)69:6<693::AID-BIT14>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/1097-0290(20000920)69:6<693::AID-BIT14>3.0.CO;2-0)
- Muñoz, R., & Guieysse, B. (2006). Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Research*, 40(15), 2799–2815. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.011>
- NAABB. (n.d.). *National Alliance for Advanced Biofuels and Bioproducts (NAABB) Synopsis*.
- Neto, A. M. P., Sotana de Souza, R. A., Leon-Nino, A. D., da Costa, J. D. ar. A., Tiburcio, R. S., Nunes, T. A., Sellare de Mello, T. C., Kanemoto, F. T., Saldanha-Corrêa, F. M. P., & Giancesella, S. M. F. (2013). Improvement in microalgae lipid extraction using a sonication-assisted method. *Renewable Energy*, 55, 525–531. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2013.01.019>
- Nobre, B. P., Villalobos, F., Barragán, B. E., Oliveira, A. C., Batista, A. P., Marques, P. A. S. S., Mendes, R. L., Sovová, H., Palavra, A. F., & Gouveia, L. (2013). A biorefinery from Nannochloropsis sp. microalga - Extraction of oils and pigments. Production of biohydrogen from the leftover biomass. *Bioresource Technology*, 135, 128–136. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.084>
- Nrel, P. P. (2010). Current Status and Potential for Algal Biofuels Production. *National Renewable Energy Laboratory NREL A Report to Bioenergy Task 39, Report T39*(August), 146. http://www.globalbioenergy.org/uploads/media/1008_IEA_Bioenergy_-_Current_status_and_potential_for_algal_biofuels_production.pdf
- Obeid, S., Beaufile, N., Camy, S., Takache, H., Ismail, A., & Pontalier, P. Y. (2018). Supercritical carbon dioxide extraction and fractionation of lipids from freeze-dried microalga Nannochloropsis oculata and Chlorella vulgaris. *Algal Research*, 34, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.07.003>
- Ognjanovic, N., Bezbradica, D., & Knezevic-Jugovic, Z. (2009). Enzymatic conversion of sunflower oil to biodiesel in a solvent-free system: Process optimization and the immobilized system stability. *Bioresource Technology*, 100(21), 5146–5154. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.05.068>
- Pacheco Ortiz, R. W., Benincá, C., & Zanoelo, E. F. (2015). Cyclically pressurized extraction of solutes from ground coffee: Kinetic experiments and modeling. *Separation and Purification Technology*, 141, 256–262.

<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.12.004>

- Pahl, S. L., Lee, A. K., Kalaitzidis, T., Ashman, P. J., Sathe, S., & Lewis, D. M. (2013). Harvesting, thickening and dewatering microalgae biomass. In *Algae for Biofuels and Energy* (pp. 165–185). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5479-9_10
- Patil, P. D., Gude, V. G., Mannarswamy, A., Cooke, P., Nirmalakhandan, N., Lammers, P., & Deng, S. (2012). Comparison of direct transesterification of algal biomass under supercritical methanol and microwave irradiation conditions. *Fuel*, *97*, 822–831. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.02.037>
- Pieber, S., Schober, S., & Mittelbach, M. (2012). Pressurized fluid extraction of polyunsaturated fatty acids from the microalga *Nannochloropsis oculata*. *Biomass and Bioenergy*, *47*, 474–482. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.10.019>
- Pirt, S. J., Lee, Y. K., Walach, M. R., Pirt, M. W., Balyuzi, H. H. M., & Bazin, M. J. (1983). A tubular bioreactor for photosynthetic production of biomass from carbon dioxide: Design and performance. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, *33*(1), 35–58. <https://doi.org/10.1002/jctb.280330105>
- Pirt, S. J., Lee, Y. K., Walach, M. R., Pirt, M. W., Balyuzi, H. H. M., & Bazin, M. J. (2008). A tubular bioreactor for photosynthetic production of biomass from carbon dioxide: Design and performance. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, *33*(1), 35–58. <https://doi.org/10.1002/jctb.280330105>
- Pittman, J. K., Dean, A. P., & Osundeko, O. (2011). The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource Technology*, *102*(1), 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.035>
- Prochazkova, G., Kastanek, P., & Branyik, T. (2015). Harvesting freshwater *Chlorella vulgaris* with flocculant derived from spent brewer's yeast. *Bioresource Technology*, *177*, 28–33. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.056>
- Prokop, A., Quinn, M. F., Fekri, M., Murad, M., & Ahmed, S. A. (1984). Spectral shifting by dyes to enhance algae growth. *Biotechnology and Bioengineering*, *26*(11), 1313–1322. <https://doi.org/10.1002/bit.260261108>
- Pugazhendhi, A., Shobana, S., Bakonyi, P., Nemestóthy, N., Xia, A., & Banu J, R. (2019). A review on chemical mechanism of microalgae flocculation via polymers. In *Biotechnology Reports* (Vol. 21, p. e00302). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2018.e00302>
- Qiang, H., & Richmond, A. (1996). Productivity and photosynthetic efficiency of *Spirulina platensis* as affected by light intensity, algal density and rate of mixing in a flat plate photobioreactor. *Journal of Applied Phycology*, *8*(2), 139–145. <https://doi.org/10.1007/BF02186317>
- Ramadas, A. S., Jayaraj, S., & Muraleedharan, C. (2005). Biodiesel production from high FFA rubber seed oil. *Fuel*, *84*(4), 335–340. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2004.09.016>
- Rashid, N., Rehman, S. U., & Han, J. I. (2013). Rapid harvesting of freshwater microalgae using chitosan. *Process Biochemistry*, *48*(7), 1107–1110. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.04.018>
- Ren, T. (2014). Primary Factors Affecting Growth of Microalgae Optimal Light Exposure Duration and Frequency [Iowa State University, Digital Repository]. In *Graduate Theses and Dissertations*. <https://doi.org/10.31274/etd-180810-2871>
- Richmond, A., Boussiba, S., Vonshak, A., & Kopel, R. (1993). A new tubular reactor for mass production of microalgae outdoors. In *Journal of Applied Phycology* (Vol. 5).
- Richmond, A., & Cheng-Wu, Z. (2001). Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp. outdoors. *Journal of Biotechnology*, *85*(3), 259–269. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(00\)00353-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00353-9)
- Robinson, L. F. ., Morrison, A. W. ., & Bamforth, M. R. (1988). *Improvements relating to byosynthesis*. (Patent No. 261,872).
- Rossignol, N., Lebeau, T., Jaouen, P., & Robert, J. M. (2000). Comparison of two membrane - Photobioreactors, with free or immobilized cells, for the production of pigments by a marine diatom. *Bioprocess Engineering*, *23*(5), 495–501. <https://doi.org/10.1007/s004499900186>
- Roy, M., & Mohanty, K. (2019). A comprehensive review on microalgal harvesting strategies: Current status and future prospects. In *Algal Research* (Vol. 44). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101683>
- Sahoo, N. K., Gupta, S. K., Rawat, I., Ansari, F. A., Singh, P., Naik, S. N., & Bux, F. (2017). Sustainable dewatering and drying of self-flocculating microalgae and study of cake properties. *Journal of Cleaner Production*, *159*, 248–256. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.05.015>
- Sakarika, M., & Kornaros, M. (2019). *Chlorella vulgaris* as a green biofuel factory: Comparison between biodiesel, biogas and combustible biomass production. *Bioresource Technology*, *273*, 237–243. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.017>
- Sánchez Mirón, A., Cerón García, M. C., García Camacho, F., Molina Grima, E., & Chisti, Y. (2002). Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: Studies in fed-batch

- culture. *Enzyme and Microbial Technology*, 31(7), 1015–1023. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00229-6](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00229-6)
- Schuchardt, U., Sercheli, R., & Vargas, R. M. (1998). Transesterification of vegetable oils: A review. In *Journal of the Brazilian Chemical Society* (Vol. 9, Issue 3, pp. 199–210). Sociedade Brasileira de Quimica. <https://doi.org/10.1590/S0103-50531998000300002>
- Severes, A., Hegde, S., D'Souza, L., & Hegde, S. (2017). Use of light emitting diodes (LEDs) for enhanced lipid production in microalgae based biofuels. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 170, 235–240. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.04.023>
- Shelef, G., Sukenik, A., & Green, M. (1965). *Microalgae Harvesting and Processing: A Literature Review; A Subcontract Report*.
- Shen, Y., & Pei, Z. J. (2009). Microalgae Mass Production Methods UV-A machining of CFRP View project Fund by Jiangsu province View project. *Elibrary.Asabe.Org*. <https://doi.org/10.13031/2013.27771>
- Shi, W., Zhu, L., Chen, Q., Lu, J., Pan, G., Hu, L., & Yi, Q. (2017). Synergy of flocculation and flotation for microalgae harvesting using aluminium electrolysis. *Bioresource Technology*, 233, 127–133. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.084>
- Shin, H., Kim, K., Jung, J.-Y., Bai, S. C., Chang, Y. K., & Han, J.-I. (2017). Harvesting of *Scenedesmus obliquus* cultivated in seawater using electro-flotation. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 34(1), 62–65. <https://doi.org/10.1007/s11814-016-0251-y>
- Sierra, E., Ación, F. G., Fernández, J. M., García, J. L., González, C., & Molina, E. (2008). Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chemical Engineering Journal*, 138(1–3), 136–147. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.06.004>
- Singh, A., Nigam, P. S., & Murphy, J. D. (2011). Renewable fuels from algae: An answer to debatable land based fuels. *Bioresource Technology*, 102(1), 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.032>
- Singh, R. N., & Sharma, S. (2012a). Development of suitable photobioreactor for algae production - A review. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 16, Issue 4, pp. 2347–2353). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.026>
- Singh, R. N., & Sharma, S. (2012b). Development of suitable photobioreactor for algae production - A review. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 16, Issue 4, pp. 2347–2353). Pergamon. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.026>
- Singh, S. P., & Singh, P. (2014). Effect of CO₂ concentration on algal growth: A review. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 38, pp. 172–179). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.05.043>
- Sipra, A. T., Gao, N., & Sarwar, H. (2018). Municipal solid waste (MSW) pyrolysis for bio-fuel production: A review of effects of MSW components and catalysts. In *Fuel Processing Technology* (Vol. 175, pp. 131–147). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2018.02.012>
- Soares, A. T., da Costa, D. C., Silva, B. F., Lopes, R. G., Derner, R. B., & Antoniosi Filho, N. R. (2014). Comparative Analysis of the Fatty Acid Composition of Microalgae Obtained by Different Oil Extraction Methods and Direct Biomass Transesterification. *Bioenergy Research*, 7(3), 1035–1044. <https://doi.org/10.1007/s12155-014-9446-4>
- Solana, M., Rizza, C. S., & Bertucco, A. (2014). Exploiting microalgae as a source of essential fatty acids by supercritical fluid extraction of lipids: Comparison between *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella protothecoides* and *Nannochloropsis salina*. *Journal of Supercritical Fluids*, 92, 311–318. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.06.013>
- Srinuanpan, S., Cheirsilp, B., Prasertsan, P., Kato, Y., & Asano, Y. (2018). Strategies to increase the potential use of oleaginous microalgae as biodiesel feedstocks: Nutrient starvations and cost-effective harvesting process. *Renewable Energy*, 122, 507–516. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.01.121>
- Suali, E., & Sarbatly, R. (2012). Conversion of microalgae to biofuel. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 16, Issue 6, pp. 4316–4342). Pergamon. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.03.047>
- Suarsini, E., & Subandi. (2011). Utilization ultrasonic to increase the efficiency of oil extraction for microalgae indigenous isolates from pond Gresik, East Java. *2011 IEEE 1st Conference on Clean Energy and Technology, CET 2011*, 275–279. <https://doi.org/10.1109/CET.2011.6041496>
- Suh, I. S., & Lee, C. G. (2003). Photobioreactor engineering: Design and performance. In *Biotechnology and Bioprocess Engineering* (Vol. 8, Issue 6, pp. 313–321). Korean Society for Biotechnology and Bioengineering. <https://doi.org/10.1007/BF02949274>
- Suthar, S., & Verma, R. (2018). Production of *Chlorella vulgaris* under varying nutrient and abiotic conditions: A potential microalga for bioenergy feedstock. *Process Safety and Environmental Protection*, 113, 141–148. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2017.09.018>
- Taher, H., Al-Zuhair, S., Al-Marzouqi, A. H., Haik, Y., & Farid, M. (2014). Effective extraction of microalgae lipids from wet biomass for biodiesel production. *Biomass and Bioenergy*, 66, 159–167. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.02.034>

- Takagi, M., Watanabe, K., Yamaberi, K., & Yoshida, T. (2000). Limited feeding of potassium nitrate for intracellular lipid and triglyceride accumulation of *Nannochloris* sp. UTEX LB1999. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54(1), 112–117. <https://doi.org/10.1007/s002530000333>
- Takagi, Mutsumi, Karseno, & Yoshida, T. (2006). Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* cells. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(3), 223–226. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.223>
- Tan, K. T., Lee, K. T., & Mohamed, A. R. (2011). Prospects of non-catalytic supercritical methyl acetate process in biodiesel production. *Fuel Processing Technology*, 92(10), 1905–1909. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2011.05.009>
- Teo, S. H., Taufiq-Yap, Y. H., & Ng, F. L. (2014). Alumina supported/unsupported mixed oxides of Ca and Mg as heterogeneous catalysts for transesterification of *Nannochloropsis* sp. microalgae's oil. *Energy Conversion and Management*, 88, 1193–1199. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2014.04.049>
- Terry, K. L., & Raymond, L. P. (1985). System design for the autotrophic production of microalgae. In *Enzyme and Microbial Technology* (Vol. 7, Issue 10, pp. 474–487). [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(85\)90148-6](https://doi.org/10.1016/0141-0229(85)90148-6)
- Tham, P. E., Ng, Y. J., Sankaran, R., Khoo, K. S., Chew, K. W., Yap, Y. J., Malahubban, M., Zakry, F. A. A., & Show, P. L. (2019). Recovery of protein from dairy milk waste product using alcohol-salt liquid biphasic flotation. *Processes*, 7(12), 875. <https://doi.org/10.3390/PR7120875>
- Toh, P. Y., Azenan, N. F., Wong, L., Ng, Y. S., Chng, L. M., Lim, J., & Chan, D. J. C. (2018). The Role of Cationic Coagulant-to-Cell Interaction in Dictating the Flocculation-Aided Sedimentation of Freshwater Microalgae. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 43(5), 2217–2225. <https://doi.org/10.1007/s13369-017-2584-1>
- Torzillo, G., Pushparaj, B., Bocci, F., Balloni, W., Materassi, R., & Florenzano, G. (1986). Production of *Spirulina* biomass in closed photobioreactors. *Biomass*, 11(1), 61–74. [https://doi.org/10.1016/0144-4565\(86\)90021-1](https://doi.org/10.1016/0144-4565(86)90021-1)
- Tredici, M. R., Carozzi, P., Chini Zittelli, G., & Materassi, R. (1991). A vertical alveolar panel (VAP) for outdoor mass cultivation of microalgae and cyanobacteria. *Bioresource Technology*, 38(2–3), 153–159. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(91\)90147-C](https://doi.org/10.1016/0960-8524(91)90147-C)
- Tredici, M. R., & Materassi, R. (1992). From open ponds to vertical alveolar panels: the Italian experience in the development of reactors for the mass cultivation of phototrophic microorganisms. *Journal of Applied Phycology*, 4(3), 221–231. <https://doi.org/10.1007/BF02161208>
- Tredici, Mario R., & Zlttelli, G. C. (1998). Efficiency of sunlight utilization: Tubular versus flat photobioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 57(2), 187–197. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19980120\)57:2<187::AID-BIT7>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19980120)57:2<187::AID-BIT7>3.0.CO;2-J)
- Uduman, N., Qi, Y., Danquah, M. K., Forde, G. M., & Hoadley, A. (2010). Dewatering of microalgal cultures: A major bottleneck to algae-based fuels. In *Journal of Renewable and Sustainable Energy* (Vol. 2, Issue 1, p. 012701). American Institute of Physics. <https://doi.org/10.1063/1.3294480>
- Umdu, E. S., Tuncer, M., & Seker, E. (2009). Transesterification of *Nannochloropsis oculata* microalgae's lipid to biodiesel on Al₂O₃ supported CaO and MgO catalysts. *Bioresource Technology*, 100(11), 2828–2831. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.027>
- Vandamme, D., Foubert, I., Fraeye, I., Meesschaert, B., & Muylaert, K. (2012). Flocculation of *Chlorella vulgaris* induced by high pH: Role of magnesium and calcium and practical implications. *Bioresource Technology*, 105, 114–119. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.105>
- Vandamme, D., Foubert, I., & Muylaert, K. (2013). Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. In *Trends in Biotechnology* (Vol. 31, Issue 4, pp. 233–239). <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.12.005>
- Velazquez-Lucio, J., Rodríguez-Jasso, R. M., Colla, L. M., Sáenz-Galindo, A., Cervantes-Cisneros, D. E., Aguilar, C. N., Fernandes, B. D., & Ruiz, H. A. (2018). Microalgal biomass pretreatment for bioethanol production: A review. In *Biofuel Research Journal* (Vol. 5, Issue 1, pp. 780–791). Green Wave Publishing of Canada. <https://doi.org/10.18331/BRJ2018.5.1.5>
- Verleyen, T., Sosinska, U., Ioannidou, S., Verhe, R., Dewettinck, K., Huyghebaert, A., & De Greyt, W. (2002). Influence of the vegetable oil refining process on free and esterified sterols. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(10), 947–953. <https://doi.org/10.1007/s11746-002-0585-4>
- Vicente, G., Martínez, M., & Aracil, J. (2004a). Integrated biodiesel production: A comparison of different homogeneous catalysts systems. *Bioresource Technology*, 92(3), 297–305. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.08.014>
- Vicente, G., Martínez, M., & Aracil, J. (2004b). Integrated biodiesel production: A comparison of different homogeneous catalysts systems. *Bioresource Technology*, 92(3), 297–305. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.08.014>
- Vogel, C. F. A., Kado, S. Y., Kobayashi, R., Liu, X., Wong, P., Na, K., Durbin, T., Okamoto, R. A., & Kado, N. Y. (2019). Inflammatory marker and aryl hydrocarbon receptor-dependent responses in human macrophages exposed to emissions from biodiesel fuels. *Chemosphere*, 220, 993–1002. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.178>

FOTOBIOREACTORES, TÉCNICAS Y PARÁMETROS IMPLICADOS EN LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES DE ORIGEN MICROALGAL. Andrea Arribas Jimeno.

- Vyas, A. P., Verma, J. L., & Subrahmanyam, N. (2010). A review on FAME production processes. In *Fuel* (Vol. 89, Issue 1, pp. 1–9). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2009.08.014>
- Wang, B., Lan, C. Q., & Horsman, M. (2012). Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses. In *Biotechnology Advances* (Vol. 30, Issue 4, pp. 904–912). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.01.019>
- Wang, B., Li, Y., Wu, N., & Lan, C. Q. (2008). CO₂ bio-mitigation using microalgae. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 79, Issue 5, pp. 707–718). Springer. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1518-y>
- Wang, S. K., Stiles, A. R., Guo, C., & Liu, C. Z. (2015). Harvesting microalgae by magnetic separation: A review. In *Algal Research* (Vol. 9, pp. 178–185). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.03.005>
- Wileman, A., Ozkan, A., & Berberoglu, H. (2012). Rheological properties of algae slurries for minimizing harvesting energy requirements in biofuel production. *Bioresource Technology*, 104, 432–439. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.027>
- Wu, S., Yassine, M. H., Suidan, M. T., & Venosa, A. D. (2016). Anaerobic biodegradation of soybean biodiesel and diesel blends under sulfate-reducing conditions. *Chemosphere*, 161, 382–389. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.06.078>
- Wu, Z., Zhu, Y., Huang, W., Zhang, C., Li, T., Zhang, Y., & Li, A. (2012). Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium. *Bioresource Technology*, 110, 496–502. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.101>
- Xu, H., Miao, X., & Wu, Q. (2006). High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. *Journal of Biotechnology*, 126(4), 499–507. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2006.05.002>
- Xu, Ling, Guo, C., Wang, F., Zheng, S., & Liu, C. Z. (2011). A simple and rapid harvesting method for microalgae by in situ magnetic separation. *Bioresource Technology*, 102(21), 10047–10051. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.021>
- Xu, Ling, Weathers, P. J., Xiong, X.-R., & Liu, C.-Z. (2009). Microalgal bioreactors: Challenges and opportunities. *Engineering in Life Sciences*, 9(3), 178–189. <https://doi.org/10.1002/elsc.200800111>
- Xu, Lixian, Wim Brilman, D. W. F., Withag, J. A. M., Brem, G., & Kersten, S. (2011). Assessment of a dry and a wet route for the production of biofuels from microalgae: Energy balance analysis. *Bioresource Technology*, 102(8), 5113–5122. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.066>
- Xu, R., & Mi, Y. (2011). Simplifying the Process of Microalgal Biodiesel Production Through In Situ Transesterification Technology. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(1), 91–99. <https://doi.org/10.1007/s11746-010-1653-3>
- Yan, Y., Li, X., Wang, G., Gui, X., Li, G., Su, F., Wang, X., & Liu, T. (2014). Biotechnological preparation of biodiesel and its high-valued derivatives: A review. In *Applied Energy* (Vol. 113, pp. 1614–1631). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.09.029>
- Ying, K., Gilmour, J., & Zimmerman, W. B. (2014). Effects of CO₂ and pH on Growth of the Microalga *Dunaliella salina*. *J Microb Biochem Technol*, 6(3), 167–173. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000138>
- Yongmanltchal, W., & Ward, O. P. (1992). Growth and eicosapentaenoic acid production by *Phaeodactylum tricornutum* in batch and continuous culture systems. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 69(6), 584–590. <https://doi.org/10.1007/BF02636113>
- Young, G., Nippen, F., Titterbrandt, S., & Cooney, M. J. (2011). Direct transesterification of biomass using an ionic liquid co-solvent system. *Biofuels*, 2(3), 261–266. <https://doi.org/10.4155/bfs.11.18>
- Yuan, J., Kendall, A., & Zhang, Y. (2015). Mass balance and life cycle assessment of biodiesel from microalgae incorporated with nutrient recycling options and technology uncertainties. *GCB Bioenergy*, 7(6), 1245–1259. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12229>
- Zmora, O., & Richmond, A. (2007). Microalgae for Aquaculture: Microalgae Production for Aquaculture. In *Handbook of Microalgal Culture* (pp. 365–379). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470995280.ch20>
- Zou, N., & Richmond, A. (1999). Effect of light-path length in outdoor fiat plate reactors on output rate of cell mass and of EPA in *Nannochloropsis* sp. *Progress in Industrial Microbiology*, 35(C), 351–356. [https://doi.org/10.1016/S0079-6352\(99\)80127-1](https://doi.org/10.1016/S0079-6352(99)80127-1)

APÉNDICES

- **APÉNDICE 1:** SISTEMA DE UNIDADES
- **APÉNDICE 2:** TABLA DE CORRIENTES
- **APÉNDICE 3:** MODIFIED BOLD'S BASAL MEDIUM
- **APÉNDICE 4:** DIAGRAMAS
 1. Process Blocks Diagram (PBD): A3_PBD_101_REV_01
 2. Symbols Diagram: A3_PFD_100_REV_01
 3. Process Flow Diagram (PFD): A1_PFD_101_REV_01

APÉNDICE 1. NOMENCLATURA Y SISTEMA DE UNIDADES

MAGNITUD	UNIDADES	ABREVIATURA
LONGITUD	Metro, kilómetro, pie, pulgada	m, km, ft, in
MASA	Kilogramo, tonelada	kg, t
TIEMPO	Segundo, minuto, hora	s, min, h
PRESIÓN	Bar, Pascal	bar, barg, Pa
TRANSFERENCIA DE CALOR	Watio, kilowatio	W, kW
ENERGÍA	Kilojulio, kilowatio hora	kJ, kWh
TEMPERATURA	Grado centigrado, grado Kelvin	°C, K
PESO MOLECULAR		kg /mol
VOLUMEN	Metro cúbico, litro	m ³ , L
VISCOSIDAD	Centipoises	Cp
DENSIDAD		kg/m ³
CONDICIONES ESTÁNDAR		1 bar, 25°C
DINERO	Euro, millón de euros	€, MM€
VOLTAJE	Voltio	V
INTENSIDAD DE CORRIENTE	Amperio	A

APÉNDICE 2. TABLA DE CORRIENTES

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
FROM	INOCULUM STORAGE	FERTILIZER STORAGE	CO ₂ STORAGE	FRESH WATER STORAGE	CULTIVATION SECTION	HARVESTING STAGE	DEWATERING STAGE	DEWATERING STAGE	CELL DISRUPTION STAGE	EXTRACTION AND PURIFICATION STAGE
TO	CULTIVATION SECTION	CULTIVATION SECTION	CULTIVATION SECTION	CULTIVATION SECTION	HARVESTING STAGE	DEWATERING STAGE	CELL DISRUPTION STAGE	CULTIVATION SECTION	EXTRACTION AND PURIFICATION STAGE	LIPIDS STORAGE
Components (t/d)										
Biomass	-	-	-	-	62,50	53,75	53,75	8,75	53,75	10
N	-	-	-	-	3,28	2,83	2,83	0,44	2,83	-
P	-	-	-	-	0,81	0,69	0,69	0,11	0,69	-
C	-	-	-	-	31,25	27,00	27	4,25	27,00	5,98
Others	-	-	-	-	27,16	23,23	23,23	3,94	23,23	4,02
H ₂ O	-	-	-	149,69	1249,38	1249,38	2,44	1246,94	2,44	-
CO ₂	-	-	22,64	-	-	-	-	-	-	-
CH ₄	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fertilizers	-	1,2313	-	-	-	-	-	-	-	-
N	-	1,15	-	-	-	-	-	-	-	-
P	-	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-
NH ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	11	12	13	14	15	16	17	18
FROM	EXTRACTION AND PURIFICATION STAGE	ANAEROBIC DIGESTION	ANAEROBIC DIGESTION	BIOGAS COMBUSTION	CULTIVATION SECTION	EXTRACTION AND PURIFICATION STAGE	ANAEROBIC DIGESTION	RESIDUAL STORAGE
TO	ANAEROBIC DIGESTION	CULTIVATION SECTION	BIOGAS COMBUSTION	CULTIVATION SECTION	ATMOSPHERE	RESIDUAL STORAGE	RESIDUAL STORAGE	SOLID WASTE DISPOSAL SITE
Components (t/d)								
Biomass	43,75	-	-	-	-	-	20,00	20,00
N	2,81	-	-	-	-	0,03	0,98	1,01
P	0,69	-	-	-	-	0,01	0,08	0,08
C	21,02	-	-	-	-	-	10,04	10,04
Others	19,24	-	-	-	-	-	8,91	8,91
H ₂ O	2,44	1,94	-	-	149,19	-	50,00	50,00
CO ₂	-	-	3,63	10,76	6,40	-	-	-
CH ₄	-	-	7,13	-	-	-	0,11	0,11
Fertilizers	-	2,44	-	-	-	-	-	-
N	-	1,83	-	-	-	-	-	-
P	-	0,61	-	-	-	-	-	-
NH ₃	-	-	-	-	0,14	-	-	-

APÉNDICE 3. MODIFIED BOLD'S BASAL MEDIUM

<u>Stocks</u>	Para 400 ml
(1) NaNO ₃	10,0 g
(2) MgSO ₄ · 7H ₂ O	3,0 g
(3) NaCl	1,0 g
(4) K ₂ HPO ₄	3,0 g
(5) KH ₂ PO ₄	7,0 g
(6) CaCl ₂ · 2H ₂ O	1,0 g

	Para 1 L
<u>Trace elements solution (autoclave to dissolve)</u>	
(7) ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8,82 g
MnCl ₂ · 4H ₂ O	1,44 g
(NH ₄) ₆ MO ₇) ₄ · 4H ₂ O	0,87 g
CuSO ₄ · 5H ₂ O	1,57 g
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,38 g
(8) H ₃ BO ₃	11,42 g
(9) EDTA	50,0 g
KOH	31,0 g
(10) FeSO ₄ · 7H ₂ O	4,98 g
H ₂ SO ₄ (conc)	1,0 ml

Bold Basal Medium está compuesto por (para 1 litro):

Soluciones de stock 1 – 6	10,0 ml cada uno
Soluciones de stock 7 – 10	1,0 ml cada uno

Preparar un litro con agua destilada o desionizada.

APÉNDICE 4. DIAGRAMAS

1. Process Blocks Diagram (PBD): A3_PBD_101_REV_01
2. Symbols Diagram: A3_PFD_100_REV_01
3. Process Flow Diagram (PFD): A1_PFD_101_REV_01

INPUTS

MICROALGAE
INOCULUM

NUTRIENTS

CARBON
DIOXIDE

FRESH
WATER

OUTPUTS

EVAPORATED
GASES

ALGAL
LIPIDS

SOLID
WASTE

SECTION 1 (1)

Microalgae
cultivation

SECTION 2 (1)

Microalgae
harvesting

Microalgae
dewatering

SECTION 3 (1)

Cell disruption

Lipids
extraction and
purification

Anaerobic
digestion

Biogas
combustion

SECTION 4 (1)

GENERAL NOTES

NOTES

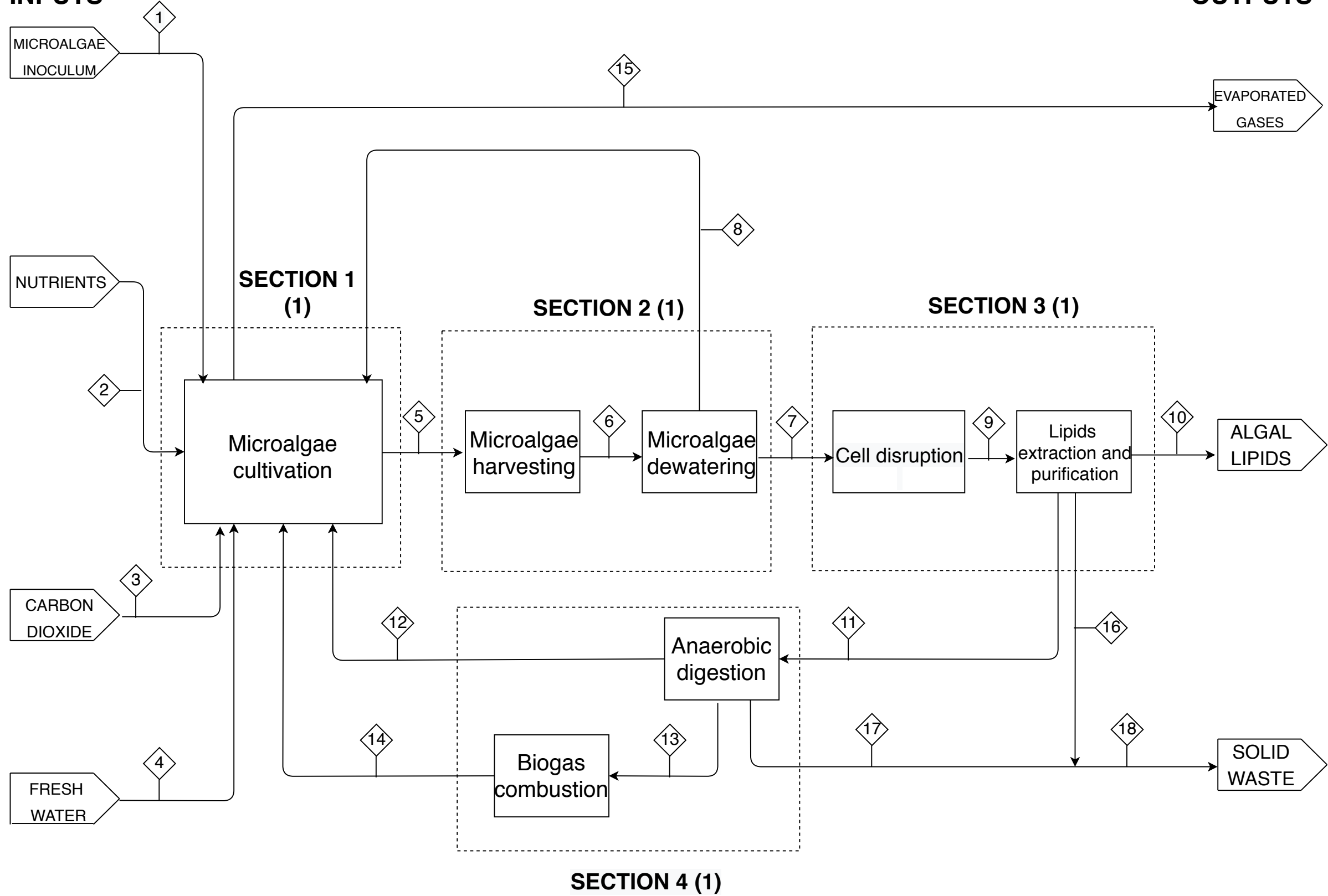
- (1) - SECTION 1: MICROALGAE CULTIVATION
- SECTION 2: MICROALGAE HARVESTING AND DEWATERING
- SECTION 3: ALGAL LIPIDS EXTRACTION
- SECTION 4: REUTILIZATION OF RESIDUAL BIOMASS

REV	BY	DESCRIPT.	DATE	REVIEWED BY
01	AAJ	DIVISION BY SECTIONS	14/06/2020	
00	AAJ		29/05/2020	

TITLE
MICROALGAL LIPIDS PRODUCTION
PLANT, SALERNO (ITALY)

PLANT CODE
A3_PBD_101_REV_01

DESCRIPTION	SCALE	
	SHEET	N.PLANE
BLOCKS DIAGRAM	WITHOUT SCALE	
	1/1	00

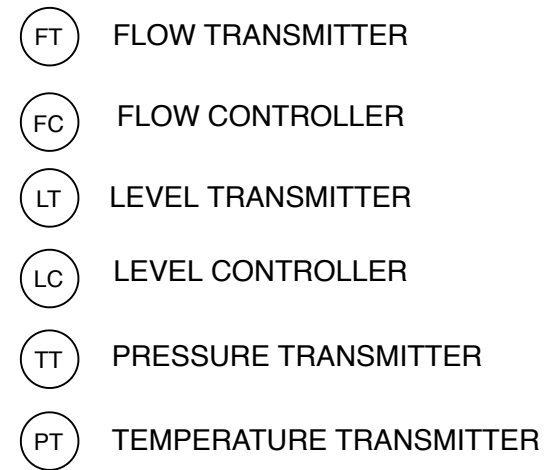
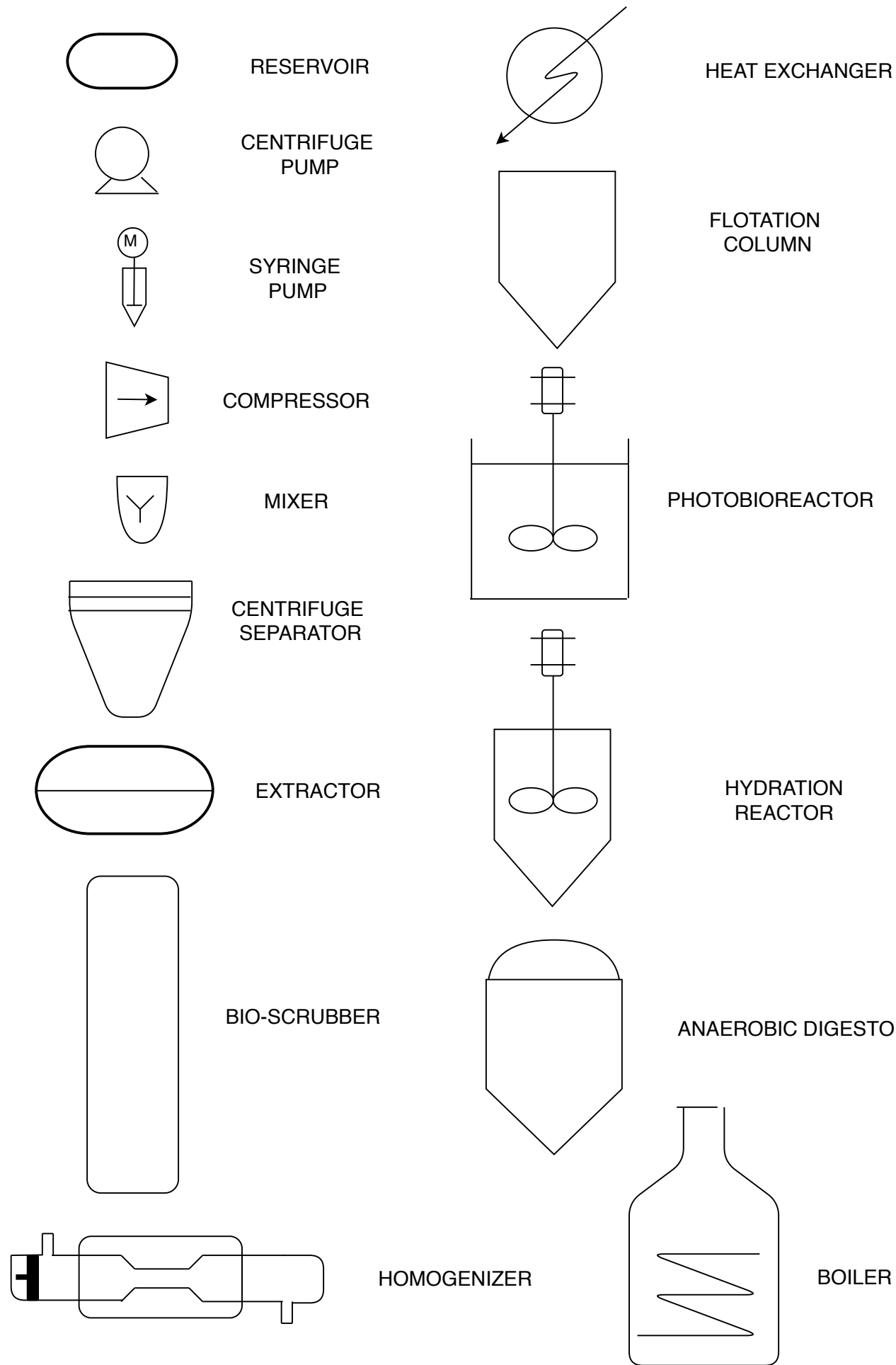


EQUIPMENT SYMBOLS

INSTRUMENTATION AND CONTROL

GENERAL NOTES

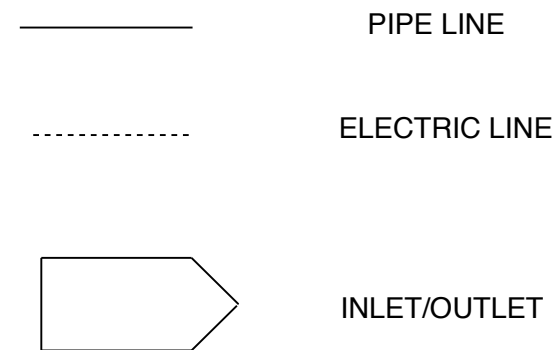
TO BE DEFINED DURING DETAILED ENGINEERING PHASE



VALVES



OTHER NOMENCLATURE

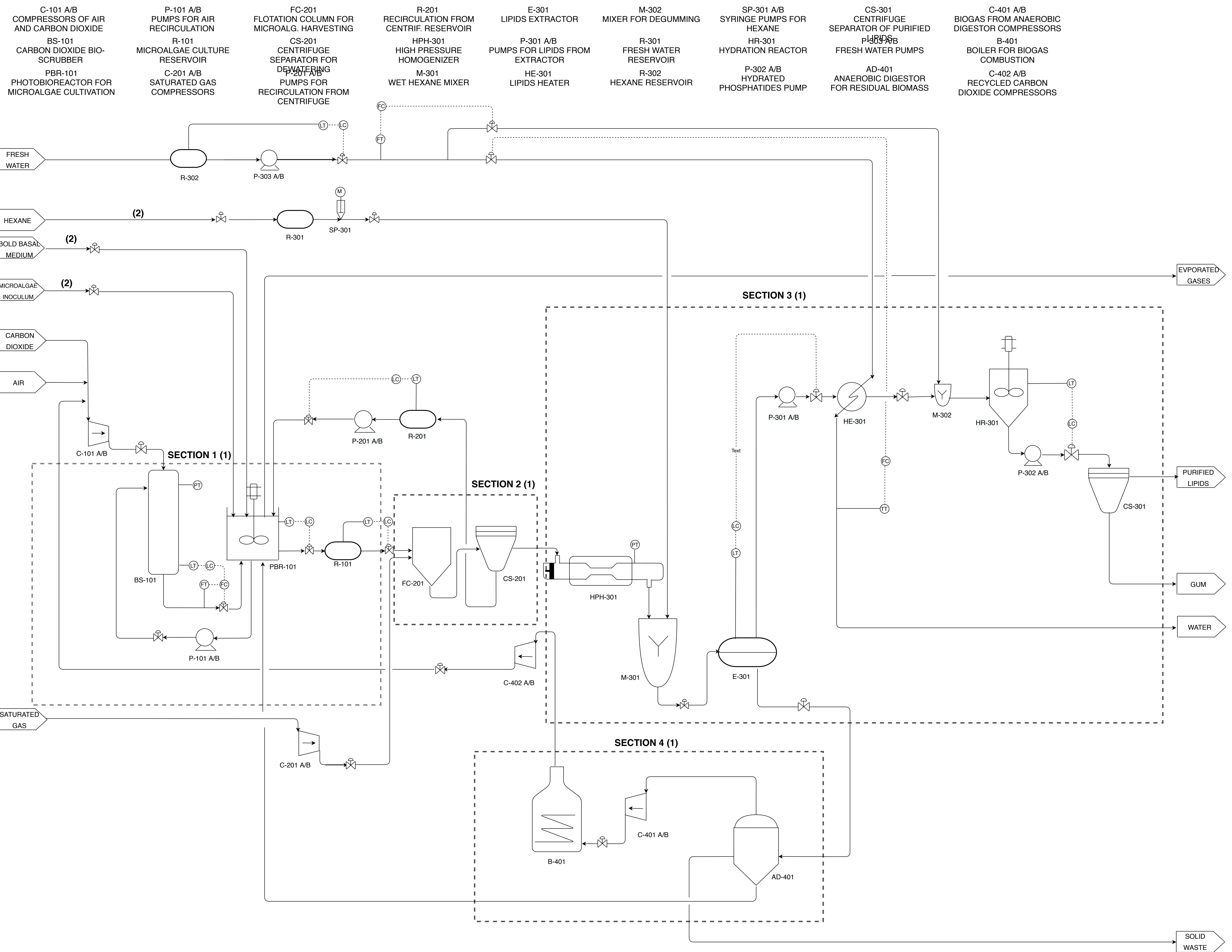


REV	BY	DESCRIPT.	DATE	REVIEWED BY
01	AAJ	NEW ELEMENTS	14/06/2020	
00	AAJ		29/05/2020	

TITLE
MICROALGAL LIPIDS PRODUCTION PLANT, SALERNO (ITALY)

PLANT CODE
A3_PFD_100_REV_01

DESCRIPTION	SCALE
SYMBOLS DIAGRAM	WITHOUT SCALE
	SHEET N.PLANE
	1/1



GENERAL NOTES

TO BE DEFINED DURING DETAILED ENGINEERING PHASE

ALL EQUIPMENT IS DESIGNATED IN PFD ZERO

NOTES

- (1) SECTION 1: MICROALGAE CULTIVATION
- SECTION 2: MICROALGAE HARVESTING AND DEWATERING
- SECTION 3: ALGAL LIPIDS EXTRACTION
- SECTION 4: REUTILIZATION OF RESIDUAL BIOMASS

(2) BATCH PROCESS. NORMAL NO FLOW

REV	BY	DESCRIPTION	DATE	REVIEWED BY
01	AAJ	MODIFICATION OF CURRENTS AND ELEMENTS	16/06/2020	
00	AAJ		10/06/2020	

TITLE
MICROALGAL LIPIDS PRODUCTION PLANT, SALERNO (ITALY)

PLANT CODE
A1_PFD_101_REV_01

DESCRIPTION FLOW DIAGRAM	SCALE WITHOUT SCALE
	SHEET N. PLANE 1/1 02